

SYNTHESE UND GERINNUNGSPHYSIOLOGISCHE PRÜFUNG
VON TETRONSÄUREDÉRIVATEN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

im

Fachbereich Pharmazie

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Jobst Wagenknecht

aus Bromberg

Berlin 1976

SYNTHESE UND GERINNUNGSPHYSIOLOGISCHE PRÜFUNG

VON TETRONSÄUREDERIVATEN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

im

Fachbereich Pharmazie

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Jobst Wagenknecht

aus Bromberg

Berlin 1976



1. Gutachter: Prof. Dr. K. Rehse
2. Gutachter: Prof. Dr. A. Kreutzberger

Tag der mündlichen Prüfung: 13.4.1976

Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Rehse durchgeführt.

Für seine Unterstützung und fördernden Hinweise danke ich ihm sehr herzlich.

Der Tierexperimentelle Teil der Arbeit wurde am Institut für Klinische Pharmakologie der Freien Universität Berlin im Klinikum Steglitz unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. N. Rietbrock durchgeführt. Für seine Einweisung in die Arbeitsmethodik und für seine stete Hilfsbereitschaft danke ich ihm ebenfalls sehr herzlich.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Theoretischer Teil	
1. Einleitung	1
2. Problemstellung	5
3. Tetronsäuren	7
3.1 Allgemeines	7
3.2 Naturstoffe mit Tetronsäuregerüst	8
3.3 Pharmakologische Aktivitäten in der Tetronsäurereihe ..	12
3.4 Tetronsäuresynthesen	16
3.4.1 Synthese 3-substituierter Tetronsäuren	18
3.4.2 Synthese 5-substituierter Tetronsäuren	18
3.4.3 Synthese 3,5-disubstituierter Tetronsäuren	21
3.5 Synthese von 5-Phenyl-3-(1-phenylpropyl)-tetronsäure	22
3.6 Synthese weiterer 3,5-disubstituierter Tetronsäuren	34
3.6.1 Synthese von 5-(4-Chlorphenyl)-3-(1-phenylpropyl)- tetronsäure und 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-phenyl- tetronsäure	37
3.6.2 Massenspektrometrischer Abbau von 5-Phenyl-3-(1-phenylpropyl)-, 5-(4-Chlorphenyl)-3-(1-phenylpropyl)-, 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-phenyltetronsäure	38
3.6.3 Synthese von 5-Methyl-3-(1-phenylpropyl)-tetronsäure und 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-methyltetronsäure	52
3.6.4 Synthese von 3-(1-Phenylpropyl)-tetronsäure und 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-tetronsäure	54
3.6.5 Massenspektrometrischer Abbau von 5-Methyl-3-(1-phenylpropyl)-, 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-methyl-, 3-(1-Phenylpropyl)-, 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-tetronsäure	56
3.7 Synthese von Bis-tetronsäuren	61
3.7.1 Abbau von 5,5'-Diphenyl-3,3'-methylenbistetronsäure und 5,5'-Diphenyl-3,3'-äthylidenbistetronsäure im Massenspektrometer	64

Tierexperimenteller Teil

4.	Gerinnungsphysiologische Prüfung der Substanzen	71
4.1	Allgemeines	71
4.2	Testung	76
4.2.1	Versuchstiere	76
4.2.2	Applikation der Substanzen	76
4.2.3	Blutentnahme, Plasmagewinnung	77
4.2.4	QUICK-Wert-Bestimmung	78
4.3	Testung von 5-Phenyl-, 5-Phenyl-3-(1-phenylpropyl)-, 5,5'-Diphenyl-3,3'-methylenbis-, 5,5'-Diphenyl-3,3'-äthylidenbistetronsäure	79
4.4	Testung von 5-(4-Chlorphenyl)-3-(1-phenylpropyl)- und 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-phenyltetronsäure	88
4.5	Testung von 5-Methyl-3-(1-phenylpropyl)-, 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-methyl-, 3-(1-Phenylpropyl)-, 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-tetronsäure und 5-Methyl-tetronsäure	94
4.6	Bestimmung der partiellen Thromboplastinzeit (PTT) ...	98
4.6.1	Allgemeines	98
4.6.2	Methodik der PTT-Bestimmung	99
4.6.3	PTT-Bestimmung für synthetisierte Substanzen und Tromexan ^R	99
4.7	Bestimmung der Thrombinzeit	102
4.7.1	Allgemeines	102
4.7.2	Methodik	102
4.7.3	Thrombinzeitbestimmung für 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-phenyl-, 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-methyl-tetronsäure und Tromexan ^R	103
4.8	Diskussion der gerinnungsphysiologischen Prüfung	104
	Zusammenfassung	106
	Experimenteller Teil	109

Die vorliegende Arbeit ist eine Untersuchung über die Bedeutung der Sprache in der Philosophie. Sie ist in drei Teile gegliedert: 1. Die Bedeutung der Sprache in der Philosophie. 2. Die Bedeutung der Sprache in der Wissenschaft. 3. Die Bedeutung der Sprache in der Kunst. Der erste Teil ist der wichtigste, da er die Grundlagen der Untersuchung legt. In ihm wird gezeigt, dass die Sprache nicht nur ein Mittel zur Kommunikation ist, sondern auch ein Werkzeug zur Erkenntnis. Die Sprache ist ein Spiegelbild der Welt, und sie kann die Welt auch verändern. Die Sprache ist ein Instrument, mit dem wir die Welt verstehen und sie auch umgestalten können.

THEORETISCHER TEIL

Im ersten Teil der Arbeit wird die Bedeutung der Sprache in der Philosophie untersucht. Es geht darum, zu klären, was die Sprache für die Philosophie bedeutet. Die Sprache ist ein zentrales Element der Philosophie, denn ohne Sprache gäbe es keine Philosophie. Die Sprache ist das Medium, in dem die Philosophie betrieben wird. Sie ist das Werkzeug, mit dem die Philosophen ihre Gedanken ausdrücken und ihre Theorien aufbauen. Die Sprache ist auch das Mittel, mit dem die Philosophen miteinander kommunizieren und ihre Ideen austauschen. Ohne Sprache wäre die Philosophie eine isolierte Tätigkeit, die nur dem Einzelnen nützt. Die Sprache ist also ein wesentliches Element der Philosophie, und sie verdient eine gründliche Untersuchung. In diesem Teil der Arbeit wird versucht, die Bedeutung der Sprache in der Philosophie zu klären und zu zeigen, wie sie die Philosophie beeinflusst. Es wird gezeigt, dass die Sprache nicht nur ein Mittel zur Kommunikation ist, sondern auch ein Werkzeug zur Erkenntnis. Die Sprache ist ein Spiegelbild der Welt, und sie kann die Welt auch verändern. Die Sprache ist ein Instrument, mit dem wir die Welt verstehen und sie auch umgestalten können.

1. Vgl. H. Reyer, *Die Philosophie der Sprache*, Berlin, 1923, S. 1.
2. Vgl. H. Reyer, *Die Philosophie der Sprache*, Berlin, 1923, S. 2.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549013_0042

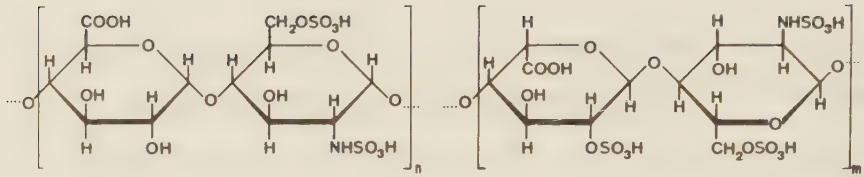
1. Einleitung

Thrombotische Geschehen stehen an der Spitze der Todesursachen in der westlichen Welt ^{1), 2)}. Von den wesentlichen Ursachen einer Thrombogenese - verlangsamte Strömungsgeschwindigkeit des Blutes, Gefäßwandschädigungen, Hyperkoagulabilität - ist praktisch nur die letztgenannte einer medikamentösen Beeinflussung zugänglich, so daß nur in diesem Bereich eine medikamentöse Thromboseprophylaxe durchgeführt werden kann.

Die zu diesem Zweck eingesetzten Antikoagulantien führen direkt oder indirekt zu einer Herabsetzung der Hyperkoagulabilität im plasmatischen Bereich des Blutgerinnungssystems. Während direkte Antikoagulantien unmittelbar auf bestimmte Gerinnungsfaktoren einwirken, nehmen indirekte Antikoagulantien Einfluß auf die Synthese von Gerinnungsfaktoren. Das vor allem aus Rinderlunge gewonnene Mucopolysaccharid Heparin (1) ist das wichtigste direkte Antikoagulans und weist als wesentlichen Vorzug eine sofort nach Applikation einsetzende Wirkung auf. Da es bei oraler Gabe nicht resorbiert wird, muß es jedoch parenteral verabreicht werden, weshalb es sich angesichts seiner kurzen plasmatischen Halbwertszeit von etwa 45 Minuten für eine Langzeitanwendung nicht eignet.

1) H. J. Day, M. W. Mosesson, Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.), 33, 405 (1975)

2) H. Poliwoda, Colfarit Symposion, Köln 1970, 26

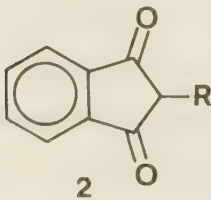


$$n \approx m; \quad n+m \approx 8 \text{ bis } 15$$

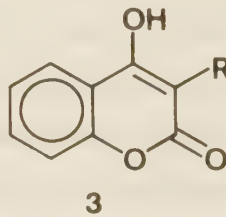
1

(Dynamische Heparinformel nach KISS³⁾)

Die zu diesem Zweck eingesetzten indirekten Antikoagulantien wirken als Vitamin-K-Antagonisten und greifen in die in der Leber ablaufende, vitamin-K-abhängige Synthese von Prothrombin und der zu m sogenannten Prothrombin-Komplex gehörenden Gerinnungsfaktoren VII, IX, X ein. Chemisch leiten sie sich vom 1,3-Indandion (**2a**) und vom 4-Hydroxycumarin (**3a**) ab:



2a: R = -H



3a: R = -H

3) J. Kiss, Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.), 33, 22 (1974)

Da die Indandion-Derivate zu erheblichen Nebenwirkungen (Hautnekrosen, Agranulocytose, Leukopenie, allergische Reaktionen) führen können, sind in Deutschland nur noch 4-Hydroxycumarin-Derivate gebräuchlich.

Gegenüber Heparin haben sie den Vorteil, oral wirksam zu sein. Wesentlicher Nachteil ist die verzögert einsetzende Wirkung, die sich aus der indirekten Wirkungsweise ergibt: erst nach Abbau bzw. Verbrauch des bereits im Plasma vorhandenen Vorrats an Prothrombin-Komplex-Faktoren kann eine gerinnungshemmende Wirkung erwartet werden. Zur sofortigen Hemmung der Ausweitung eines thrombotischen Geschehens nach dessen Manifestation eignen sie sich demnach nicht. Nachteilig ist auch ihr kleiner therapeutischer Index, so daß wegen der Gefahr der Überdosierung eine sehr genaue, individuelle Einstellung der Patienten auf das Medikament und eine sehr sorgfältige und regelmäßige Überwachung des Gerinnungsstatus der Patienten erforderlich sind.

Eine abschließende Antwort nach dem wirksamen Prinzip der indirekten Antikoagulantien vom Typ der 4-Hydroxycumarine konnte trotz umfangreicher Arbeiten bisher nicht gegeben werden ⁴⁾. LINK und Mitarbeiter ^{5), 6)} halten

4) Vgl. E. Renk, W. G. Stoll in Fortschritte der Arzneimittelforschung, Bd. 11, S. 153 ff., Birkhäuser-Verlag, Basel und Stuttgart 1968

5) R. S. Overman, M. A. Stahmann, Ch. F. Huebner, W. R. Sullivan, L. Spero, D. G. Doherty, M. Ikawa, L. Graf, S. Roseman und K. P. Link, J. Biol. Chem. 153, 5 (1944)

6) K. P. Link, R. S. Overman, W. R. Sullivan, Ch. F. Huebner und L. D. Scheel, *ibid.*, S. 5463

ein intaktes 4-Hydroxycumaringerüst mit einem geeigneten Substituenten in C-3 für essentiell. Auch RENK und STOLL ⁷⁾ sind der Ansicht, daß Verbindungen ohne anellierten Phenylring inaktiv sind. Diese Meinung hatten auch bereits JANSEN und JENSEN ⁸⁾ vertreten.

Während ARORA und MATHUR ⁹⁾ das gerinnungshemmende Prinzip in einer (von ihnen jedoch nicht näher definierten) bestimmten Molekülgeometrie vermuten und die Ansicht vertreten, daß nicht einzelne strukturelle Gegebenheiten, sondern eine Kombination derselben die Antikoagulanswirkung ausmachen (wobei sich die Autoren allerdings außerstande sehen, hierzu genauere Angaben zu machen), machen andere Autoren bestimmte Teilstrukturen für die Wirkung verantwortlich, so eine zur Hemiketalbildung mit der Hydroxylfunktion in C-4 befähigte Carbonylfunktion in der Seitenkette in C-3 ¹⁰⁾.

7) loc. cit. 4), S. 245

8) K. F. Jansen und K. A. Jensen, Z. Physiol. Chem. 277, 66 (1943)

9) R. B. Arora und C. N. Mathur, Brit. J. Pharmacol. 20, 29 (1963)

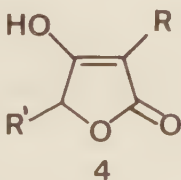
10) I. Chmielewska und J. Cieślak, Tetrahedron 4, 135 (1958)

2. Problemstellung

Vor diesem Hintergrund schien es sinnvoll zu untersuchen, ob – wie von LINK und Mitarbeitern^{5), 6)} postuliert – die gerinnungshemmende Wirkung an ein benzokondensiertes System (wie das 4-Hydroxycumarin (**3a**) gebunden ist oder nicht. Im letzteren Fall sollten veränderte Eigenschaften der wirksamen Substanz, zumindest pharmakokinetischer Art, zu erwarten sein.

Eine gewisse Unterstützung erfuhr diese Erwartung im Laufe der vorgelegten Untersuchungen durch QUÉVAL und Mitarbeiter¹¹⁾, die bei ihren Arbeiten nur in der 4-Hydroxycumarinreihe Verbindungen mit starker gerinnungshemmender Aktivität fanden, bemerkenswerterweise allerdings im 2H-6-(4-Äthylphenyl)-4-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-2-oxopyran eine nicht benzokondensierte Verbindung mit (schwacher und nur 1-2 Stunden andauernder) blutgerinnungshemmender Wirkung entdeckt haben.

Unter diesem Aspekt erschien die Synthese 3,5-disubstituierter Tetronsäurederivate **4** interessant.



11) P. Quéval, B. Falconet, M. Susini-Garnier, A. Krikorian-Manoukian, D. Courmarcel und N. P. Buu-Hoi, Chim. Thé. 1972, 7 (4), 300

Als Prototyp wurde die 5-Phenyl-3-(1-phenylpropyl)-tetronsäure (**4a**) (**4** : R' = Phenyl, R = 1-Phenylpropyl) gewählt, bei der der Benzolkern sehr nahe am Lactonring angeordnet ist und der Substituent in C-3 dem des als sehr wirksam bekannten MARCUMAR^R (**3** : R = 1-Phenylpropyl) entspricht.

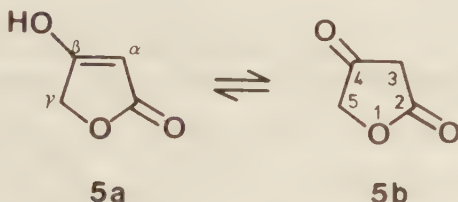
Ziel der vorliegenden Arbeit war somit

- a) die Synthese 3,5-disubstituierter Tetronsäuren mit geeigneten Substituenten, speziell von **4a**,
- b) die pharmakologische Prüfung der synthetisierten Substanzen auf ihre gerinnungshemmende Wirkung.

3. Tetronsäuren

3.1 Allgemeines

Grundkörper der angestrebten Modellsubstanz **4a** ist die Tetronsäure¹²⁾ (**5**), eine starke, einbasige Säure¹³⁾, formulierbar als γ -Lacton der β, γ -Dihydroxycrotonsäure (**5a**) bzw. der tautomeren γ -Hydroxyacetessigsäure (= 2,4(3H,5H)-Furandion) (**5b**) :



Die erstmals von WOLFF und SCHWABE (loc. cit.) synthetisierte Säure sowie ihre Derivate erweisen sich gegenüber alkalischer Hydrolyse als außerordentlich stabil¹⁴⁾⁻¹⁸⁾ und unterscheiden sich damit von anderen Lactonen. Mit Aldehyden und Ketonen reagiert die Tetronsäure sehr leicht in α -Stellung

12) L. Wolff und C. Schwabe, Liebigs Ann. Chem. 291, 226 (1896)

13) W. D. Kumler, J. Amer. Chem. Soc. 60, 859 (1938)

14) W. Wedel, Liebigs Ann. Chem. 219, 71 (1883)

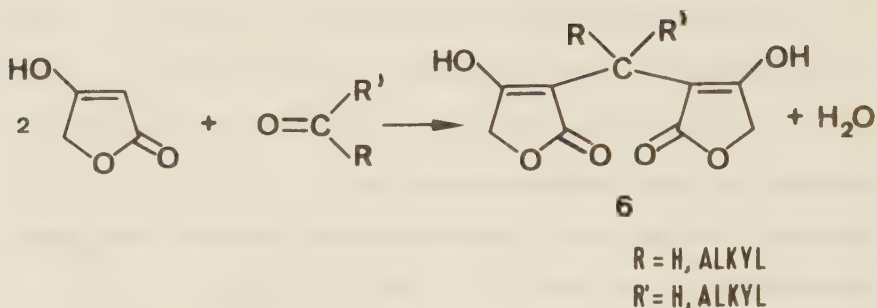
15) R. Moscheles und H. Cornelius, Ber. Deut. Chem. Ges. 21, 2603 (1888)

16) L. Wolff, Liebigs Ann. Chem. 288, 1 (1895)

17) E. B. Reid und R. B. Fortenbaugh, J. Org. Chem. 16, 33 (1951)

18) L. J. Haynes und J. R. Plimmer, Quart. Rev. (London) 14, 315 (1960)

unter Bildung von Bis-Produkten (**6**)¹⁹⁾:



3.2 Naturstoffe mit Tetronsäuregerüst

Die Tetronsäure ist Grundkörper zahlreicher Naturstoffe, z. B. der schon lange bekannten Flechtenfarbstoffe Vulpinsäure (**7a**) und Pulvinsäure (**7b**)^{20), 21)}, der sich davon ableitenden Flechtenfarbstoffe Pulvinsäurelacton (**8**)²⁰⁾ und Calycin (**9a**)²²⁾ sowie der z. T. erst in jüngster Zeit isolierten und in ihrer Konstitution aufgeklärten Pilzfarbstoffe Variegatsäure (**7c**)²³⁾⁻²⁵⁾, Variegatorubin (**9b**)²⁶⁾ und Atromentinsäure (**7d**)²⁷⁾.

19) L. Wolff und W. Schimpff, Liebigs Ann. Chem. 315, 145 (1901)

20) A. Spiegel, Liebigs Ann. Chem. 219, 1 (1883);
id., Ber. Deut. Chem. Ges. 15, 1546 (1882)

21) P. Karrer, K. A. Gerckens und W. Heuss, Helv. Chim. Acta 9, 446 (1926)

22) R. M. Letcher und Sh. Eggers, Tetrahedron Lett. 36, 3541 (1967)

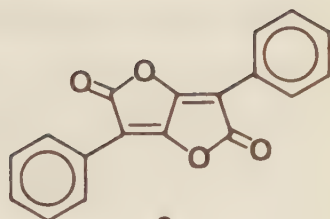
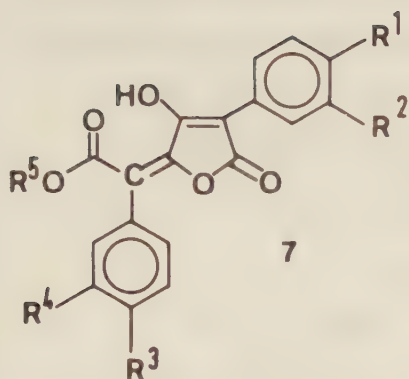
23) R. L. Edwards und G. C. Elsworthy, J.C.S. Chem. Commun. 1967, 373

24) W. Steglich, W. Furtner und A. Prox, Z. Naturforsch. 23 b, 1044 (1968)

25) C. Beaumont, R. L. Edwards und G. C. Elsworthy, J. Chem. Soc. C 1968, 2968

26) W. Steglich, W. Furtner und A. Prox, Z. Naturforsch. 25 b, 557 (1970)

27) R. J. Wikholm und H. W. Moore, J. Amer. Chem. Soc. 94, 6152 (1972)

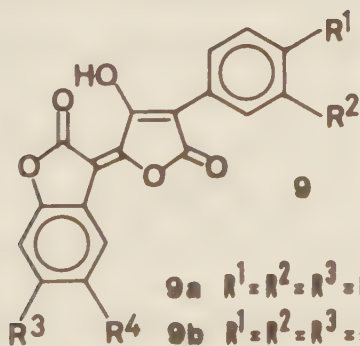


7a $R^1=R^2=R^3=R^4=-H$; $R^5=-CH_3$

7b $R^1=R^2=R^3=R^4=R^5=-H$

7c $R^1=R^2=R^3=R^4=-OH$; $R^5=-H$

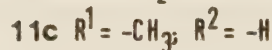
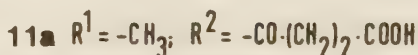
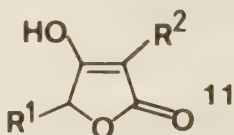
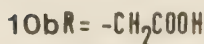
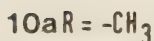
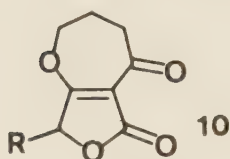
7d $R^1=R^3=-OH$; $R^2=R^4=R^5=-H$



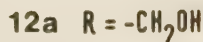
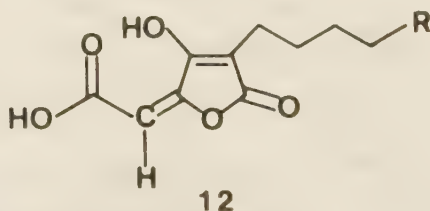
9a $R^1=R^2=R^3=R^4=-H$

9b $R^1=R^2=R^3=R^4=-OH$

Das Tetronsäuregerüst findet sich auch in Stoffwechselprodukten zahlreicher Schimmelpilze. CLUTTERBUCK und Mitarbeiter^{28), 29)} konnten beispielsweise aus Kulturen von *Penicillium charlesii* Carolsäure (**10a**), Carolinsäure (**11a**), Carlossäure (**11b**), Carlsäure (**10b**, als Hydrat) und 5-Methyltetronsäure (**11c**) isolieren:



Vor kurzem erst isolierten GUDGEON et al.³⁰⁾ aus *Penicillium multicolor* die Multicolsäure (**12a**) und die Multicolossäure (**12b**):

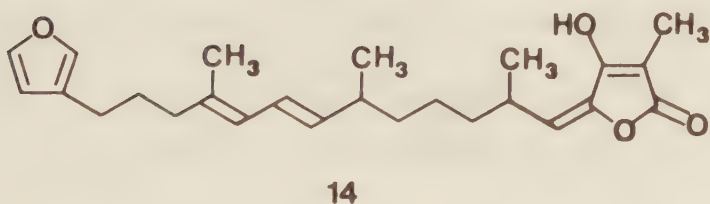
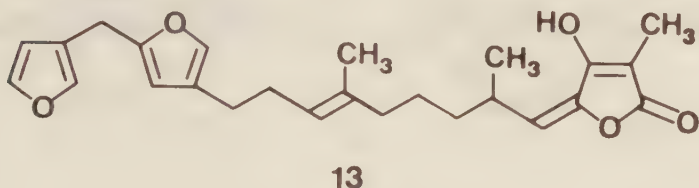


28) P. W. Clutterbuck, W. N. Haworth, H. Raistrick, G. Smith und M. Stacey, *Biochem. J.* **28**, 94 (1934)

29) P. W. Clutterbuck, H. Raistrick und F. Reuter, *Biochem. J.* **29**, 300, 871 (1935)

30) J. A. Gudgeon, J. S. E. Holker und Th. J. Simpson, *J.C.S. Chem. Commun.* **1974**, 836

Tetronsäureabkömmlinge finden sich auch als Inhaltsstoffe bestimmter Meeres-
schwämme, z. B. das Ircinin-1 (**13**)³¹⁾ oder das Fasciculatin (**14**)³²⁾:



Mit dem Auffinden der Piperolide (**15**) und Epoxipiperolide (**16**) konnten
HÄNSEL et al.³³⁾⁻³⁵⁾ zeigen, daß - neben Ascorbinsäure (**17**) - Natur-
stoffe mit Tetronsäuregerüst auch in höheren Pflanzen vorkommen:

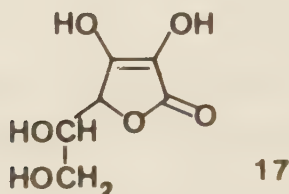
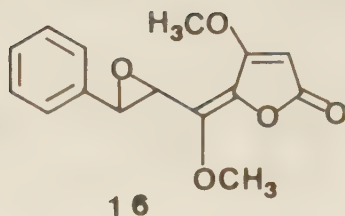
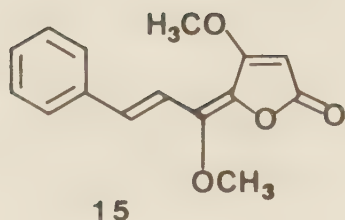
31) G. Cimino, S. De Stefano, L. Minale und E. Fattorusso, *Tetrahedron* 28, 333 (1972)

32) F. Cafieri, E. Fattorusso, C. Santacroce und L. Minale, *Tetrahedron* 28, 1579 (1972)

33) R. Hänsel und A. Pelter, *Phytochem.* 10, 1627 (1971)

34) A. Pelter und R. Hänsel, *Z. Naturforsch.* 27 b, 1186 (1972)

35) R. Hänsel, C. Beer und J. Schulz, *Chem. Ber.* 106, 3139 (1973)



3.3 Pharmakologische Aktivitäten in der Tetronsäurereihe

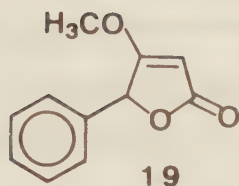
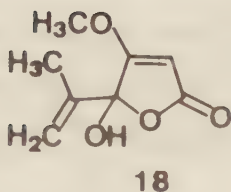
In vielen Fällen haben sich Verbindungen mit Tetronsäuregerüst als pharmakologisch wirksam erwiesen. Die antibakterielle Wirksamkeit der Penicillinsäure (**18**)³⁶⁾⁻³⁸⁾ soll die von Penicillin übertreffen³⁹⁾, und der Methyläther der 5-Phenyltetronsäure (**19**) soll sogar noch um ein Vielfaches (30 x) stärker wirksam sein³⁸⁾.

36) C. L. Alsberg und O. F. Black, U.S. Dept. Agric. Bureau Plant Ind. Bull. N^o 199, 270, ref.: C. 1914, II, 1169

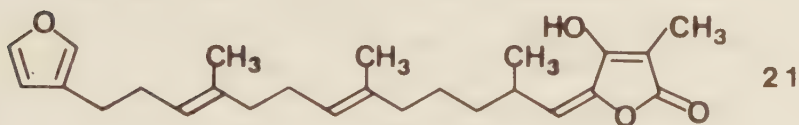
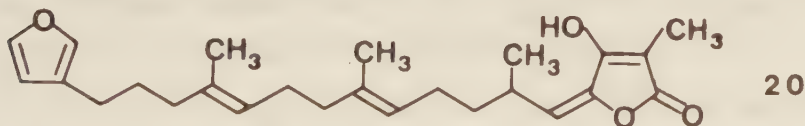
37) J. H. Birkinshaw, A. E. Oxford und H. Raistrick, Biochem. J. 30, 394 (1936)

38) A. W. Nineham und R. A. Raphael, J. Chem. Soc. 1949, 119

39) loc. cit. 18), S. 294



Antibiotische Eigenschaften zeigen auch die kürzlich aus Meeresschwämmen isolierten Verbindungen Strobilin (**20**) und Variabilin (**21**)⁴⁰⁾:



LÄUGER et al.⁴¹⁾ entdeckten die stark insektizide Wirkung des Pulvinsäurelactons (**8**) und der Vulpinsäure (**7a**). Darüber hinaus soll **7a** noch in hoher Verdünnung antibakteriell wirksam sein, z. B. gegen *Mycobacterium tuberculosis*⁴²⁾. Wegen der zu hohen Toxizität verbietet sich jedoch eine Verwendung in der Humanmedizin. Im Tierversuch weist **7a** zudem

40) I. Rothberg und P. Shubiak, *Tetrahedron Lett.* 1975, 769

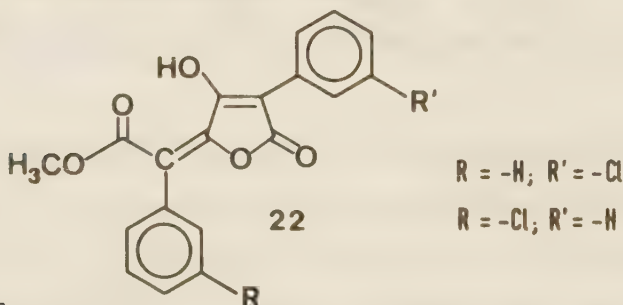
41) P. Läger, H. Martin und P. Müller, *Helv. Chim. Acta* 27, 897 (1944)

42) A. Stoll, J. Renz und A. Brack, *Experientia* 3, 111, 115 (1947)

entzündungshemmende Eigenschaften auf, führt jedoch gleichzeitig zu toxischen Nebenreaktionen (Hyperventilation), die in vielen Fällen zum Tode führten und möglicherweise bereits den Eskimos bekannt waren, die Vulpinsäure enthaltende Flechten zum Vergiften von Wölfen benutzten⁴³⁾.

Hinlänglich bekannt ist die pharmakologische Bedeutung der Ascorbinsäure (**17**) (= Vitamin C), einer α -Hydroxytetronsäure.

In neuerer Zeit wurden zahlreiche Pulvin- und Vulpinsäurederivate synthetisiert^{43), 44)}, die im Tierversuch je nach Substitutionsmuster der aromatischen Ringe antiphlogistische, antipyretische, analgetische, antiarthritische Eigenschaften zeigten. Beispiele für derartige Verbindungen sind die Vulpinsäurederivate **22** und **23**^{45), 46)}:



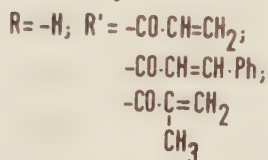
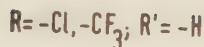
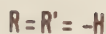
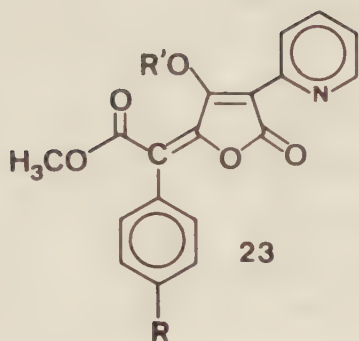
43) F. R. Foden, J. McCormick und D. M. O'Mant, J. Med. Chem. 18, 199 (1975)

44) Vgl. (inter al.): a) Smith Kline and French Laboratories (Erf. B. M. Sutton), U.S. 3,752,829 (13. Okt. 1971) [C.A. 79, 115428u (1973)]

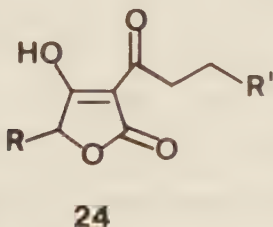
b) Smithkline Corp. (Erf. J. Weinstock), U.S. 3,780,064 (30. Jun. 1972) [C.A. 80, 95710v (1974)]

45) Imperial Chemical Industries Ltd. (Erf. F. R. Foden, J. McCormick und D. M. O'Mant), Brit. 1,358,382 (20. Apr. 1971) [C.A. 81, 120438t (1974)]

46) Smithkline Corp. (Erf. B. M. Sutton), U.S. 3,816,440 (6. Jul. 1971) [C.A. 81, 91365j (1974)]



Tetronsäureabkömmlinge wie **24** zeigten blutdrucksenkende Eigenschaften⁴⁷⁾.



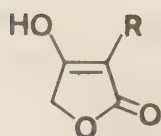
3-Benzyltetronsäure (**25a**) und 3-n-Butyltetronsäure (**25b**) wirken in Form ihrer Salze als Lösungsvermittler für Aminophenazon^{48), 49)}. Während sie selbst nur geringe antipyretische, analgetische oder antiphlogistische Wirkungen entfalten, steigern sie diese Wirkungen des Aminophenazons, wenn sie in Kombination mit diesem gegeben werden⁵⁰⁾. Sie wirken gleichzeitig sedierend, ebenso wie die 3-Carbamoylmethyltetronsäure (**25c**)

47) Toray Industries, Inc. (Erf. M. Omo und N. Kawabe), Japan Kokai 7469,659 (31. Okt. 1972) [C.A. 81, 151976w (1974)]

48) B. Reichert und H. Schäfer, Arch. Pharm. (Weinheim) 291, 100, 184 (1958)

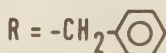
49) id., Arzneim.-Forsch. 12, 935 (1962)

und die 3-Isobutylcarbamoylmethyltetronsäure (**25d**)⁴⁸⁾.



25

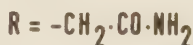
25a



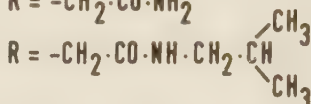
25b



25c



25d

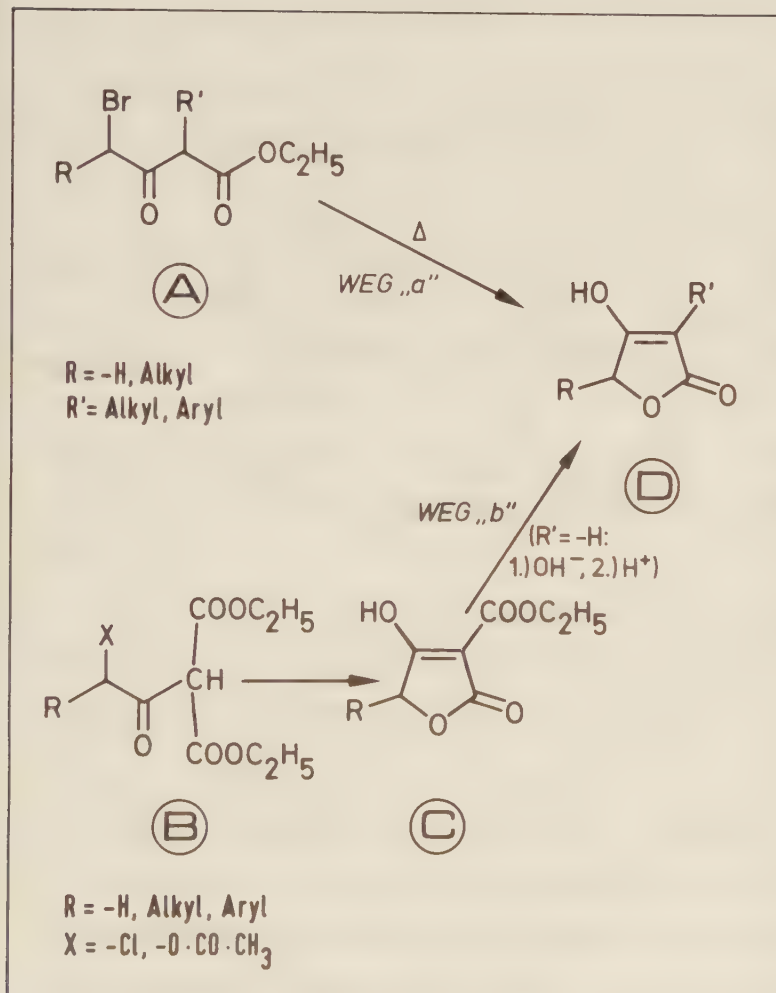


Wirkungen auf die Blutgerinnung sind für Tetronsäurederivate bisher nicht beschrieben worden. Sowohl JANSEN und JENSEN als auch OVERMAN et al. testeten zwar auch die 3,3'-Methylenbistetronsäure (**6** : $R=R'=H$), sie stellten dabei jedoch fest, daß sie inaktiv ist⁵¹⁾.

3.4 Tetronsäuresynthesen

Für Tetronsäure (**5**) und ihre Derivate wurde eine Vielzahl von Synthesen entwickelt. Das nachfolgende Schema I gibt einen Überblick über die am all-gemeinsten anwendbaren, bisher bekannten Synthesewege zur Darstellung von Tetronsäure (**5**), 3-substituierten, 5-substituierten und 3,5-disubstituierten Tetronsäuren. Weiter unten folgen dann nähere Einzelheiten zu den einzelnen Synthesewegen.

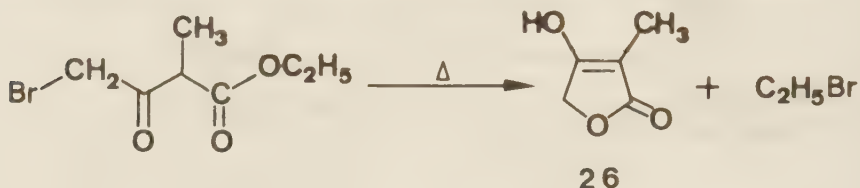
50) H. Hofmann, K. H. Boltze und K. H. Chemnitz, *Arzneim.-Forsch.* 6, 208 (1956)



SCHEMA 1: Synthesewege für substituierte Tetronsäuren

3.4.1 Synthese 3-substituierter Tetronsäuren

In 3-Stellung substituierte Tetronsäuren "D" ($R=H$; $R'=Alkyl, Aryl$) erhält man aus den entsprechenden 2-Aryl- bzw. 2-Alkyl-4-bromacetessigestern "A" durch thermischen Ringschluß⁵²⁾⁻⁵⁵⁾ (WEG "a"). Als erste Verbindung dieser Art wurde so die 3-Methyltetronsäure (**26**) synthetisiert:



3.4.2 Synthese 5-substituierter Tetronsäuren

Die Synthese 5-substituierter Tetronsäuren gelingt nach dem vorstehend beschriebenen Verfahren nicht, da in α -Stellung nicht alkylierte γ -Bromacetessigester thermisch nicht cyclisiert werden können⁵⁶⁾. Mit der Darstellung der 5-Phenyltetronsäure (**32**) fanden ANSCHÜTZ und BÖCKER⁵⁷⁾ jedoch einen Syntheseweg für in 5-Stellung substituierte Tetronsäuren. Durch Umsetzung von O-Acetylmandelsäurechlorid (**27**) mit dem Natriumsalz des Malonsäurediäthylesters (**28**) erhielten sie den Acylmalonester **29**, der

52) W. Pawlow, Ber. Deut. Chem. Ges. 16, 486 (1883)

53) R. Fittig, *ibid.*, S. 1939

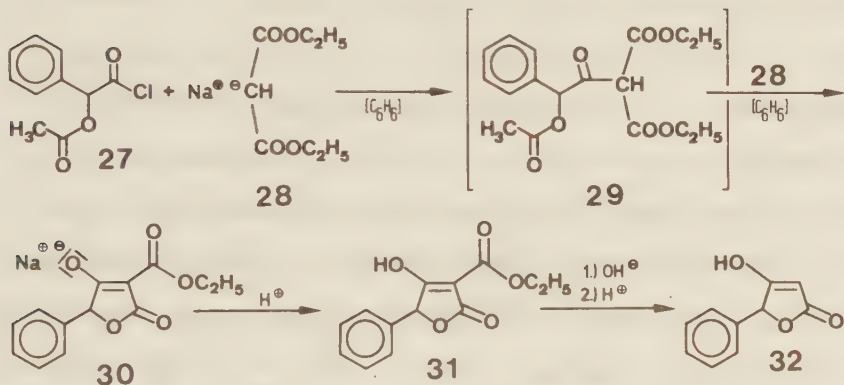
54) W. Wedel, Liebigs Ann. Chem. 219, 71 (1883)

55) O. Dimroth und M. Eble, Ber. Deut. Chem. Ges. 39, 3928 (1906)

56) Vgl. A. Svendsen und P. M. Boll, Tetrahedron 29, 4251 (1973)

57) R. Anschütz und R. Böcker, Liebigs Ann. Chem. 368, 53 (1909)

in situ durch im Überschuß vorhandenen Natriummalonester (**28**) zum Natriumsalz der 3-Äthoxycarbonyl-5-phenyltetronsäure (**30**) cyclisiert wurde. Die aus diesem Salz durch Ansäuern erhaltene freie Säure **31** lieferte nach alkalischer Hydrolyse der Estergruppe beim Ansäuern unter Decarboxylierung **32**.



BENARY ⁵⁸⁾, ⁵⁹⁾ schlägt einen ähnlichen Weg ein, setzt jedoch nicht 2-Acetoxy-carbonsäurechloride, sondern 2-Halogencarbonsäurechloride ein.

Nach ANSCHÜTZ und BÖCKER sowie BENARY werden demnach geeignete Acylmalonester "B" zu den entsprechenden 3-Äthoxycarbonyltetronsäuren "C" cyclisiert, die nach Verseifung der Äthoxycarbonylfunktion beim Ansäuern die Tetronsäuren "D" ($R' = H$; $R = \text{Alkyl, Aryl}$) liefern (WEG "b"). Auf diesem Weg läßt sich auch die Tetronsäure selbst darstellen ($R' = R = H$) ⁶⁰⁾.

58) E. Benary, Ber. Deut. Chem. Ges. 40, 1079 (1907)

59) id., Ber. Deut. Chem. Ges. 44, 1759 (1911)

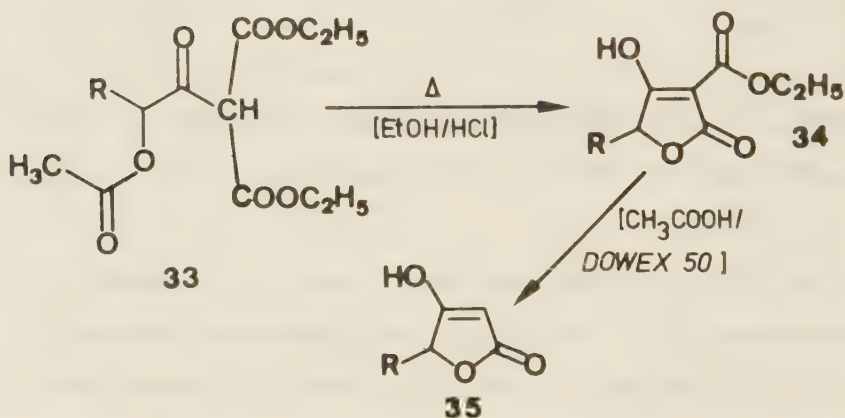
60) R. Anschütz und W. Bertram, Liebigs Ann. Chem. 315, 145 (1901)

Beim Nacharbeiten der Vorschrift von BENARY konnten allerdings nur Spuren der gewünschten Tetronsäure erhalten werden.

Ähnliche Erfahrungen haben vor kurzem auch GELIN und POLLET gemacht ⁶¹⁾.

Nach ihren Untersuchungen gestaltet sich bereits die Acylierung des Malonesters mit 2-Halogencarbonsäurechloriden schwierig. Die Zyklisierung des nach Acylierung mit 2-Acetoxy-carbonsäurechloriden erhaltenen Acylmalonesters **33** gelingt nach Angaben der Autoren in hoher Ausbeute, wenn man

33 in absolutem Äthanol in Gegenwart von HCl am Rückfluß erhitzt. Hydrolyse und Decarboxylierung zur entsprechenden Tetronsäure **35** erfolgen dann mittels Eisessig in Gegenwart eines kationischen Austauschharzes (DOWEX 50):



Dieses Verfahren soll nach Angaben der letztgenannten Autoren auch wesentlich bessere und reproduzierbarere Ausbeuten liefern als das Verfahren von ANSCHÜTZ und BÖCKER ⁵⁷⁾. Entgegen den Erfahrungen von GELIN und POLLET konnte jedoch im Rahmen der vorliegenden Arbeit 5-Phenyltetron-

61) S. Gelin und P. Pollet, Bull. Soc. Chim. Fr. 1975, 1/2, 307

säure mit Hilfe des Verfahrens von ANSCHÜTZ und BÖCKER, das leicht abgeändert wurde, in guter Gesamtausbeute hergestellt werden (48 %, bezogen auf das eingesetzte O-Acetylmandelsäurechlorid, verglichen mit 35 %, die nach Angabe von GELIN und POLLET mit ihrem Verfahren erzielt wurden; s. Experm. Teil).

3.4.3 Synthese 3,5-disubstituierter Tetronsäuren

Zwar ist prinzipiell das schon von PAWLOW et al.⁵²⁾⁻⁵⁵⁾ zur Darstellung 3-substituierter Tetronsäuren angewandte Verfahren auch für die Synthese 3,5-disubstituierter Tetronsäuren geeignet^{17), 62), 63)}. Es setzt jedoch die Herstellung entsprechender Ketoester voraus, die nach Alkylierung und Bromierung "A" (R = Alkyl; s. Schema I, S. 17) ergeben. Die Herstellung geeigneter Ketoester gestaltet sich in der Praxis allerdings häufig schwierig⁶⁴⁾.

Im Laufe der vorliegenden Arbeit konnte mit der Darstellung von **51 d** die Durchführbarkeit dieser Methode für die Herstellung 3,5-dialkylsubstituierter Tetronsäuren ebenfalls gezeigt werden. 3-Alkyl-5-aryltetronsäuren waren bislang allerdings noch nicht synthetisiert worden. Es war geplant, mit **4 a** ebenfalls nach dieser Methode (WEG "a", Schema I, S. 17) eine erste Verbindung dieser Art herzustellen. Der erforderliche 4-Phenylacetessigester

62) Vgl. A. Hantzsch und O. Wohlbrück, Ber. Deut. Chem. Ges. 20, 1322 (1887)

63) Vgl. loc. cit. 15), S. 2605

64) Vgl. G. W. Anderson, I. F. Halverstadt, W. H. Miller und R. O. Roblin, jr., J. Amer. Chem. Soc. 67, 2197 f. (1945)

konnte jedoch nicht in der nötigen Reinheit hergestellt werden, und die Ausbeuten bei den verschiedenen Ansätzen waren stets unbefriedigend. In der Literatur finden sich die verschiedensten Herstellungsvorschriften, und eine Reihe von Autoren heben die Schwierigkeiten der Reindarstellung hervor, insbesondere HAUSER und HUDSON⁶⁵⁾, BRESLOW und Mitarbeiter⁶⁶⁾, ANDERSON und Mitarbeiter⁶⁴⁾ sowie SONN und LITTEN⁶⁷⁾. Es wurde daher versucht, auf einfachere Weise zu den gewünschten 3,5-disubstituierten Tetronsäuren zu gelangen.

3.5 Synthese von 5-Phenyl-3-(1-phenylpropyl)-tetronsäure (**4a**)

Da die 3-Stellung in 4-Hydroxycumarinen zu ähnlichen Reaktionen befähigt ist wie in der Tetronsäure (z. B. Umsetzung mit Formaldehyd oder Acetaldehyd)⁶⁸⁾, sollte zunächst versucht werden, 3-Alkylderivate der 5-Phenyl-tetronsäure in Analogie zu den für 3-Alkyl-4-hydroxycumarine angegebenen Verfahren herzustellen.

3-Alkyl-4-hydroxycumarine sind durch Umsetzung von 4-Hydroxycumarin (**3a**) mit geeigneten Bromiden und sekundären Alkoholen zugänglich. So läßt sich

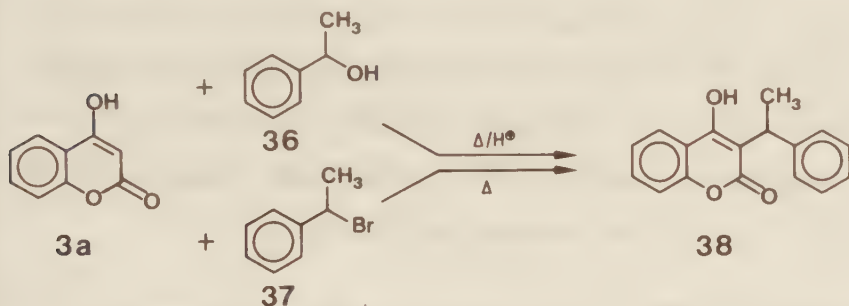
65) Ch. R. Hauser und B. E. Hudson in R. Adams (ed.), Organic Reactions, 8. Aufl., Bd. I, S. 297 f., John Wiley & Sons, Inc., New York - London 1960

66) D. D. Breslow, E. Baumgarten und Ch. R. Hauser, J. Amer. Chem. Soc. 66, 1286 (1944)

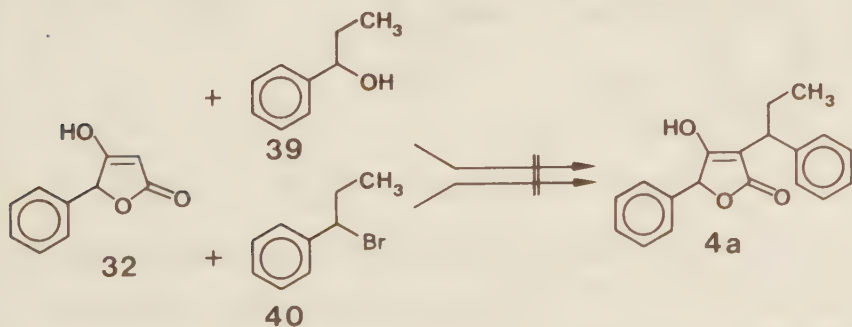
67) A. Sonn und W. Litten, Ber. Deut. Chem. Ges. 66, 1512 (1933)

68) R. Anschütz, Liebigs Ann. Chem. 367, 169 (1909)

beispielsweise 3-(1-Phenyläthyl)-4-hydroxycumarin (**38**) durch Erwärmen von **3a** mit Methylphenylcarbinol (**36**) in Eisessig/Schwefelsäure ⁶⁹⁾ oder durch Zusammenschmelzen von **3a** mit 1-Phenyläthylbromid (**37**) ^{70), 71)} synthetisieren.



Der Versuch, **32** in entsprechender Weise mit Äthylphenylcarbinol (**39**) bzw. 1-Phenyläthylbromid (**40**) zu alkylieren, blieb jedoch erfolglos.



Die Alkylierung von **32** mit **40** gelang auch nicht in Gegenwart einer

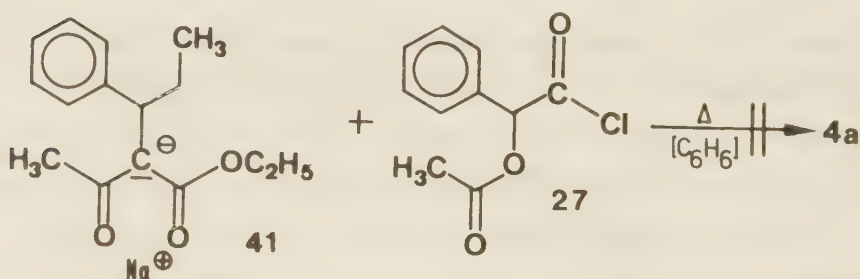
69) E. Enders, Angew. Chem. 69, 481 (1957)

70) C. H. Schroeder, E. D. Titus und K. P. Link, J. Amer. Chem. Soc. 79, 3291 (1957)

71) Wisconsin Alumni Research Foundation (Erf. C. H. Schroeder und K. P. Link), U.S. 2,872,457 (19. Apr. 1956) [C.A. 53, 12305d (1959)]

LEWIS-Säure (AlCl_3)⁷²⁾. Neben harzigen Produkten ließen sich lediglich die Ausgangssubstanzen isolieren.

HEILBRON und HILL⁷³⁾ gelang die Darstellung in 3-Stellung substituierter 4-Hydroxycumarine durch Reaktion der Natriumsalze entsprechend in 2-Stellung substituierter Acetessigester mit O-Acetylsalicylsäurechlorid in der Hitze. Es sollte möglich sein, auf entsprechende Weise aus dem Natriumsalz des 2-(1-Phenylpropyl)-acetessigesters (**41**) und O-Acetylmandelsäurechlorid (**27**) die gewünschte Verbindung **4a** zu erhalten.



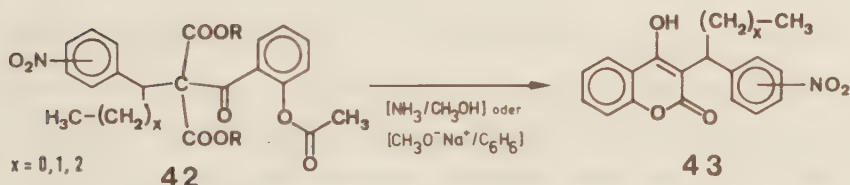
Dieser Weg führte jedoch auch nicht zum Ziel: nach Abdampfen des als Reaktionsmedium benutzten Benzols blieb ein braunes Öl zurück, das sich nicht destillieren ließ. Ein alkalischer Auszug gab beim Einrühren in konz. Salzsäure/Eis einen Niederschlag, der chromatographisch uneinheitlich war und sich nicht

72) Die Alkylierung von **32** mit Äthylbromid in Gegenwart von SnCl_2 bzw. von **32** mit Benzylchlorid in Gegenwart von AlCl_3 war bereits von HAYNES und JAMIESON ohne Erfolg versucht worden (vgl. L. J. Haynes und J. W. Jamieson, J. Chem. Soc. 1958, 4132)

73) I. M. Heilbron und D. W. Hill, J. Chem. Soc. 1927, 1705

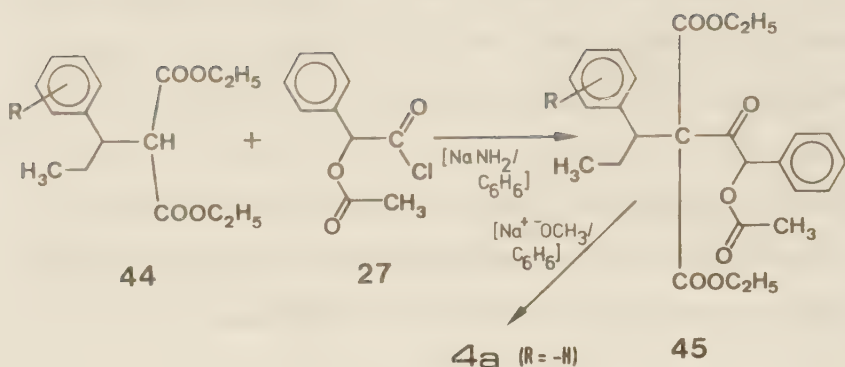
weiter aufarbeiten ließ. Beim Versuch der Umkristallisation aus Äthanol/Wasser entstand ein gelbbraunes Öl, das nicht mehr zur Kristallisation gebracht werden konnte und nach dem Chromatogramm aus mindestens sieben verschiedenen Substanzen bestand.

GRÜSSNER und HEGEDÜS ⁷⁴⁾ erhielten durch Zyklisierung der Acylalkylmalonester **42** mittels Natriummethylat in wasserfreiem Benzol oder mittels Ammoniak in Methanol die 4-Hydroxycumarinderivate **43**.



Im Rahmen der vorliegenden Arbeit zeigte sich dann, daß ganz analog in 3-Stellung substituierte Phenyltetronsäuren erhalten werden, wenn nicht O-Acetylsalicylsäurechlorid, sondern O-Acetylmandelsäurechlorid (**27**) zur Acylierung des entsprechend der gewünschten Substitution alkylierten Malonesters eingesetzt wird:

74) F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel (Erf. A. Grüssner und B. Hegedüs), Schwz. P. 326,363 (22. Apr. 1954) [C.A. 53, 9252f (1959)]



Der nach Vorschrift des ORGANIKUM⁷⁵⁾ aus **40** und Malonsäurediäthylester hergestellte Alkylmalonester **44** (R=H) wurde nach Überführung in sein Natriumsalz mit **27** zum Acylalkylmalonester **45** (R=H) acyliert, der allerdings nicht rein dargestellt werden konnte, da das nach Aufarbeitung des Reaktionsgemisches erhaltene zähflüssige gelbe Öl sich während der versuchten Destillation bei 0,02 Torr vorzeitig zersetzte.

Ohne weitere Reinigung wurde daher **45** (R=H), in wenig wasserfreiem Benzol gelöst, zu einer gut gerührten Suspension von feingepulvertem Natrium-methylat in wasserfreiem Benzol getropft, wobei es zu einer leichten Erwär-

75) Organikum, 9. Aufl., S. 536, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1970

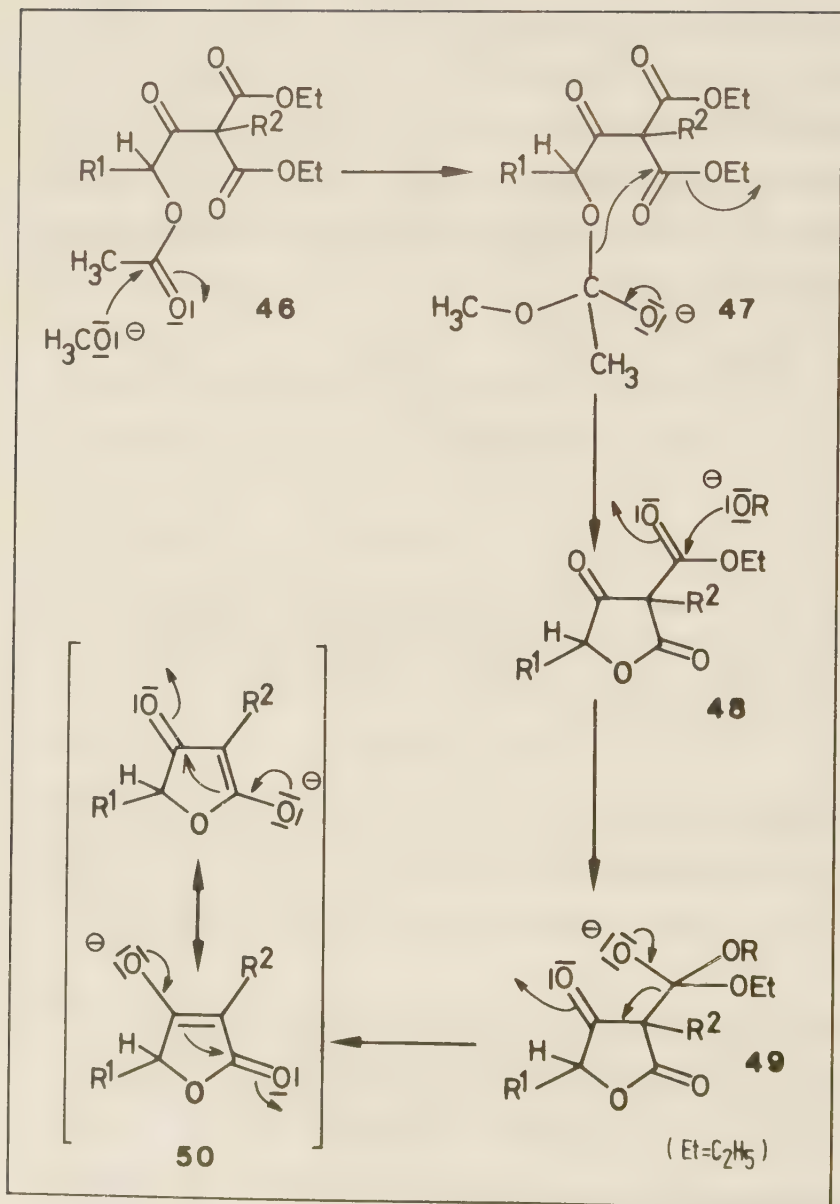
mung, Farbvertiefung und Klärung des Reaktionsgemisches kam. Bei 55°C wurde dann 36 Stunden lang gerührt. Die in dieser Zeit entstandene starke Trübung des Reaktionsgemisches verstärkte sich im Laufe weiterer vier Stunden nicht mehr. Nach Aufarbeitung (s. Experim. Teil) wurden aus Äther/Petroläther (Sdp. 40-60°C) farblose, zu halbkugelförmigen Büscheln vereinigte Kristallnadelchen erhalten.

Chemisches Verhalten, Elementaranalyse und spektroskopische Eigenschaften wiesen das erhaltene Produkt als die gewünschte Verbindung **4a** aus.

Ähnlich wie Tetronsäure (**5**)¹²⁾ gibt **4a** mit FeCl_3 eine rötliche Farbreaktion. In 0,1 N NaOH erfolgt Auflösung, desgleichen in gesättigter Hydrogencarbonatlösung. Aus diesen Lösungen fällt **4a** auf Zugabe überschüssiger Salzsäure wieder aus.

Die Entstehung von **4a** unter den Reaktionsbedingungen könnte entsprechend dem nachfolgend postulierten Mechanismus (s. Schema II, S. 28) verlaufen sein, ohne daß jedoch versucht wurde, diesen Mechanismus aufzuklären.

Das durch nucleophilen Angriff des Methylatanions am Carbonylkohlenstoff der Acetylgruppe von **46** entstehende Addukt **47** zyklisiert sich unter Abspaltung von Essigsäuremethylester und Elimination von Äthylat zur Tricarbonylverbindung **48**. Diese unterliegt nach nucleophilem Angriff eines Alko-



SCHEMA 11: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Entstehung von 50

holatanions am Carbonylkohlenstoff der Äthoxycarbonylfunktion von **48** unter Ausbildung des Adduktes **49** einer der "Esterspaltung" von Tricarbonylverbindungen⁷⁶⁾ analogen Reaktion und liefert nach Abspaltung von Äthylmethylcarboxylat bzw. Diäthylcarboxylat das mesomeriestabilisierte Anion **50**, aus dem nach Ansäuern **4a** bzw. entsprechende Säuren erhalten werden.

Die Struktur von **4a** wurde durch das NMR- und das Massenspektrum gesichert.

Bei dem in DMSO- d_6 aufgenommenen ^1H -NMR-Spektrum von **4a** (s. Abb. 1) erscheinen die Methylprotonen der Phenylpropylgruppe in C-3 als Triplet bei $\delta = 0,89$ ppm ($J=7$ Hz), die Methylenprotonen als schwach angespaltenes, breites Multiplett bei $\delta = 2$ ppm ($J=7$ Hz und 8 Hz), und das Signal des Methinprotons ist bei $\delta = 3,7$ ppm ($J=8$ Hz) als ebenfalls schwach angespaltenes Triplet zu erkennen. Das Proton in C-5 ergibt ein Dublett bei $\delta = 5,75$ ppm, dessen Kopplungskonstante $J \ll 1$ Hz die Vermutung nahelegt, daß es sich hier um eine "long range"-Kopplung mit dem Methinproton der Seitenkette in C-3 handelt. Die Aromatenprotonen erscheinen als Multiplett mit breiter Basis mit Zentrum bei etwa $\delta = 7,33$ ppm. Das OH-Proton ergibt kein erkennbares Signal mehr und ist nur durch die über einen Bereich von ca. $\delta = 10-12,2$ ppm geschriebene Integrationskurve zu erfassen, die nach Austausch mit D_2O ohne Anstieg verläuft.

76) Vgl. loc. cit. 75), S. 528

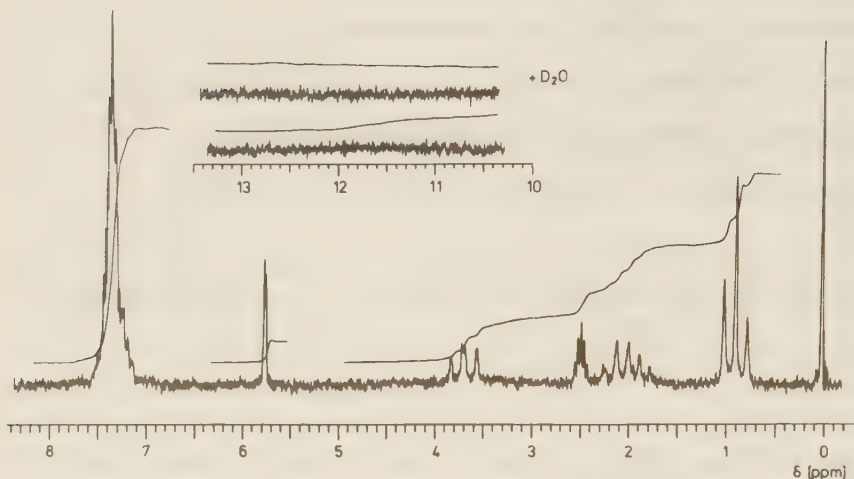


Abb. 1: ^1H -NMR-Spektrum von **4a** in DMSO-d_6

Ein Vergleich mit den in DMSO-d_6 und in CDCl_3 aufgenommenen Spektren von **32** (Abb. 2 und 3) zeigt, daß **4a** in DMSO-d_6 (und in CDCl_3 , nicht abgebildet) praktisch völlig enolisiert vorliegen dürfte. Während das NMR-Spektrum von **32** in DMSO-d_6 lediglich ein Singulett bei $\delta = 5,08$ ppm für H-3 (austauschbar mit D_2O), eines bei $\delta = 5,88$ ppm für H-5 und eines bei $\delta = 7,42$ ppm für die aromatischen Protonen aufweist und damit für das Vorliegen der Enolform von **32** spricht, zeigt das NMR-Spektrum derselben Verbindung in CDCl_3 ein zusätzliches Signal: Neben einem stark aufgespaltenen Singulett (nahezu Dublettstruktur) mit Schwerpunkt bei $\delta = 7,4$ ppm (aromatische Protonen), einem Singulett bei $\delta = 5,73$ ppm (H-5) und einem angespaltenen Singulett bei $\delta = 5,17$ ppm (H-3) tritt ein leicht angespaltenes

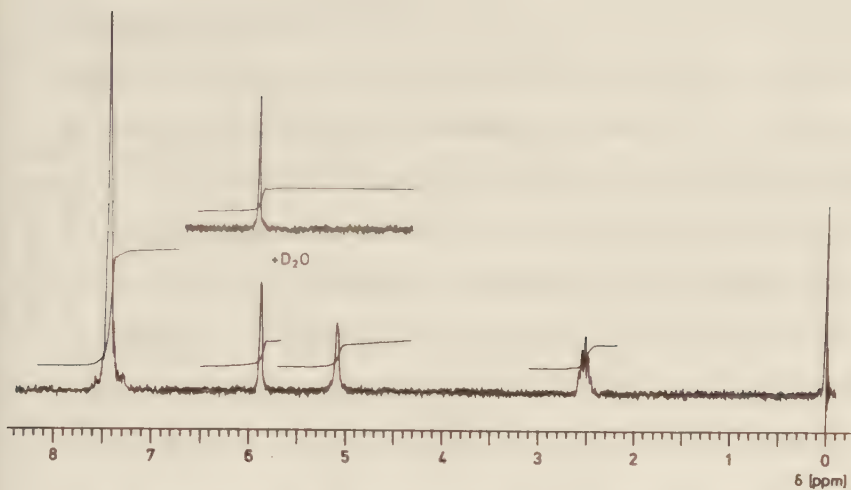


Abb. 2: ^1H -NMR-Spektrum von **32** in $\text{DMSO}-d_6$

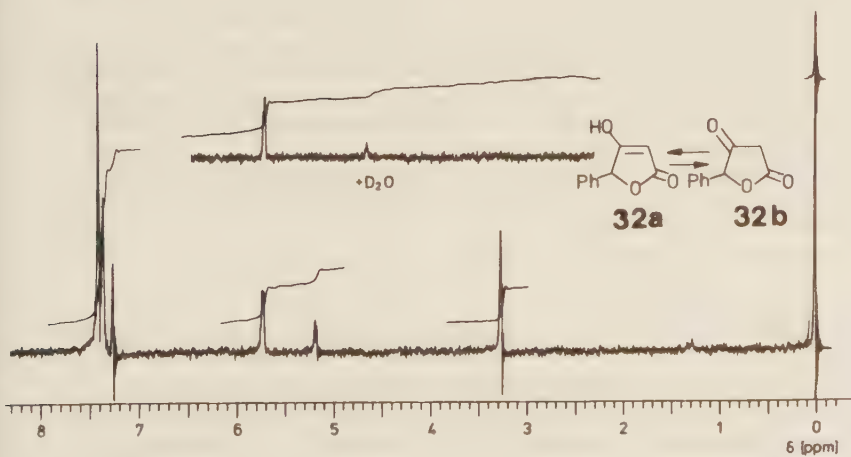


Abb. 3: ^1H -NMR-Spektrum von **32** in CDCl_3

Singulett bei $\delta = 3,27$ ppm auf. Offenbar liegt **32** in CDCl_3 zu einem gewissen Anteil auch in der Ketoform **32b** vor, deren Methylenprotonen in C-3 dann das Signal bei $\delta = 3,27$ ppm zuzuordnen wäre. Diese Annahme wird durch die Beobachtung gestützt, daß die beiden Signale bei $\delta = 5,17$ ppm und $\delta = 3,27$ ppm nach Zusatz von D_2O verschwinden. Die Intensität dieser beiden Signale entspricht jeweils nur etwa der Hälfte der bei Vorliegen der einen oder der anderen tautomeren Form allein zu erwartenden Signalintensität. Das bedeutet, daß in dem vorliegenden Gleichgewicht Keto- und Enolform zu jeweils etwa 50 % vorliegen. Entsprechendes konnte bei den NMR-Spektren von **4a** nicht beobachtet werden. Substitution in 3-Stellung begünstigt offenbar die Enolform ⁷⁷⁾.

Das Massenspektrum von **4a** (s. Abb. 7, S. 39) läßt neben dem Molpeak bei MZ 294 eine Reihe von Fragmenten erkennen, die im Zusammenhang mit dem hochaufgelösten Massenspektrum von **4a** die durch das ^1H -NMR-Spektrum wahrscheinlich gemachte Struktur von **4a** untermauern. Das Fragmentierungsmuster soll im Zusammenhang mit den Verbindungen **51a,b** erläutert werden (s. 3.6.2, S. 38).

Die bereits durch ^1H -NMR- und Massenspektrum gesicherte Struktur von **4a** erhält eine weitere Stützung durch das IR-Spektrum (s. Abb. 4), das im Einklang mit den von DUNCANSON ⁷⁷⁾ erarbeiteten Daten für eine Reihe von

⁷⁷⁾ L. A. Duncanson, J. Chem. Soc. 1953, 1207

Tetronsäurederivaten steht.

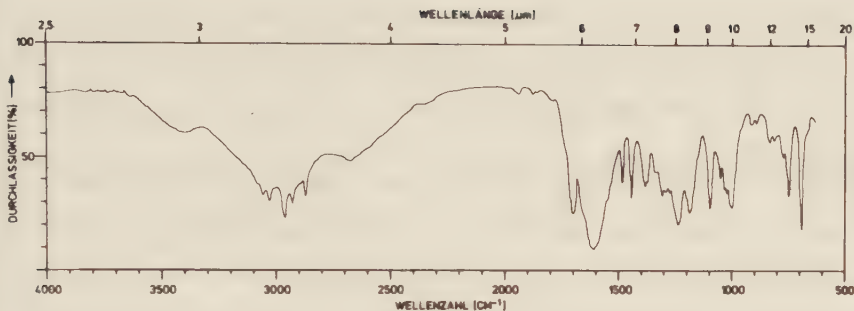


Abb. 4: IR-Spektrum von **4a** in KBr

Bei dem in KBr aufgenommenen Spektrum fällt auf, daß eine sehr starke, relativ breite und wenig aufgelöste Bande bei 1615 cm^{-1} (C=C-Valenzschwingungen) ebenso wie eine starke Bande bei 1705 cm^{-1} (C=O-Valenzschwingungen) bei wesentlich niedrigerer Wellenzahl auftreten, als für ein α, β -ungesättigtes Fünfringlacton zu erwarten wäre ^{78), 79)}. Dies deutet auf stärkere intermolekulare Assoziation der Verbindung im Festzustand hin ^{77), 80)}. Für diese Annahme spricht auch die verhältnismäßig niedrige

78) L. J. Bellamy, Ultrarot-Spektrum und chemische Konstitution, 2. Aufl., S. 148, Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt 1966

79) D. H. Williams und I. Fleming, Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, 2. Aufl., S. 62, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971

80) *ibid.*, S. 56

Lage der OH-Streckschwingung bei $2560\text{--}2730\text{ cm}^{-1}$ ⁸¹⁾. In Übereinstimmung damit wurden bei der Untersuchung der Kristallstruktur von 3-Methyltetronsäure (**26**) starke Wasserstoffbrücken festgestellt, durch die die Moleküle im Kristall zu langen Ketten verknüpft sind ⁸²⁾.

Erwartungsgemäß kommt es bei der Aufnahme in Chloroform bei steigender Verdünnung zu einer Verschiebung der C=O- und C=C-Banden zu höheren Wellenzahlen hin (1745 cm^{-1} und 1660 cm^{-1} , vgl. Abb. 5).

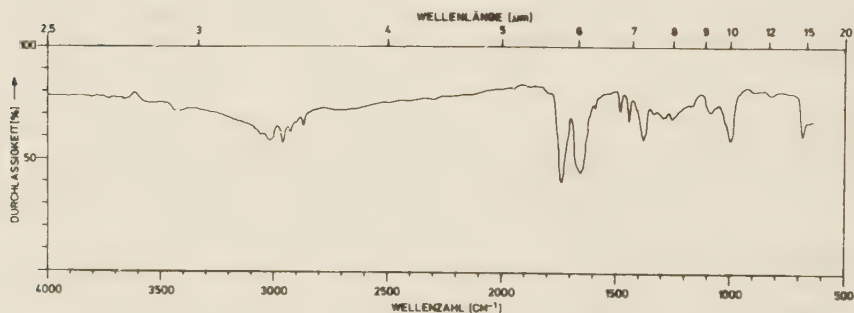


Abb. 5: IR-Spektrum von **4a** in CHCl_3

3.6 Synthese weiterer 3,5-disubstituierter Tetronsäuren

Mit der Synthese von **4a** wurde ein einfacher Weg zur Darstellung 3,5-disubstituierter Tetronsäuren gefunden. Wie bereits unter 3.4.3 erwähnt, ist auch

81) R. S. Rasmussen, D. D. Tunnicliff und R. R. Brattain, J. Amer. Chem. Soc. 71, 1068 (1949)

82) S. W. C. MacDonald und A. B. Alleyne, Acta Crystallogr. 16, 520 (1963)

über entsprechende β -Ketoester ein prinzipieller Zugang zu 3,5-disubstituierten Tetronsäuren gegeben.

Ein allgemeiner, allerdings nicht immer problemloser Weg zur Darstellung höherer β -Ketoester besteht in der α -Acylierung von Acetessigester mit anschließender HUNSDIECKER-Spaltung⁸³⁾. Damit beinhaltet der unter 3.4.3 erwähnte Weg zur Gewinnung 3,5-disubstituierter Tetronsäuren fünf Reaktionsschritte: (1) Acylierung des Acetessigesters (2) HUNSDIECKER-Spaltung (3) Alkylierung des entstandenen β -Ketoesters (4) Bromierung (5) Zyklisierung.

Die im Zuge der vorliegenden Arbeit ausgearbeitete Darstellungsmethode hingegen erfordert lediglich drei Reaktionsschritte: (1) Alkylierung des Malonesters (2) Acylierung des erhaltenen Alkylmalonesters (3) Zyklisierung. Sie gestaltet sich somit sehr einfach.

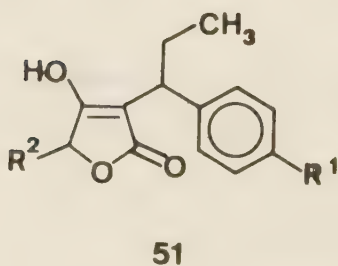
Daher sollte die allgemeine Anwendbarkeit der neuen Darstellungsmethode mit der Synthese weiterer 3,5-disubstituierter Tetronsäuren gezeigt werden. Die im Zusammenhang damit auftretende Frage nach der Wahl geeigneter, d. h. im Rahmen der pharmakologischen Fragestellung der Arbeit sinnvoller Substituenten wurde unter zwei Aspekten behandelt.

83) H. Hunsdiecker, Ber. Deut. Chem. Ges. 75, 454 (1942)

Nachdem sich **4a** im Tierversuch als wirksam erwiesen hatte (s. Tierexperiment. Teil) und damit das eingangs dargelegte, von LINK et al. aufgestellte Postulat eines benzokondensierten Systems als Mindestvoraussetzung für die Struktur eines oralen Antikoagulans als haltlos angesehen werden mußte, stellte sich zum einen die Frage, ob zur Erzielung einer blutgerinnungshemmenden Wirkung Phenylsubstitution in 5-Stellung des Tetronsäuregerüsts überhaupt erforderlich ist.

Zum anderen sollte geprüft werden, inwieweit sich unter Anwendung des TOPLISS-Modells⁸⁴⁾ durch Einführung von Substituenten mit negativem induktivem Effekt in die Aromaten eine Wirkungsveränderung erzielen läßt.

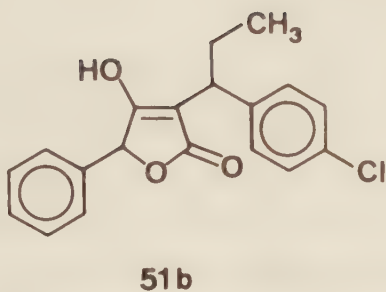
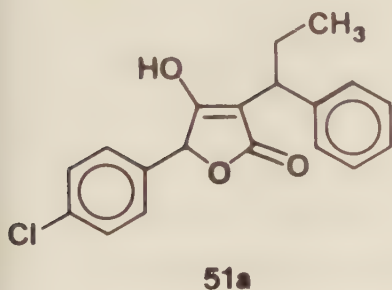
Ausgehend von diesen beiden Aspekten wurden für die Synthese weiterer 3,5-disubstituierter Tetronsäuren die Verbindungen **51a-f** ausgewählt.



	R ¹	R ²
51a	H	p-Cl-C ₆ H ₄
51b	Cl	C ₆ H ₅
51c	H	CH ₃
51d	Cl	CH ₃
51e	H	H
51f	Cl	H

84) J. G. Topliss, J. Med. Chem. 15, 1006 (1972)

3.6.1 Synthese von **51a** und **51b**



51a,b ließen sich, wie für **4a** beschrieben, durch Zyklisierung der entsprechenden Acylalkylmalonester mittels Natriummethylat in Benzol in guter Ausbeute darstellen.

Die Struktur der Verbindungen wurde mit Hilfe der $^1\text{H-NMR}$ -, der Massen- und der IR-Spektroskopie gesichert. Die Lage der Signale der NMR-Spektren ist in Tabelle 1, S. 55 angegeben. Abb. 6 gibt stellvertretend für beide Verbindungen das IR-Spektrum von **51b** in KBr wieder.

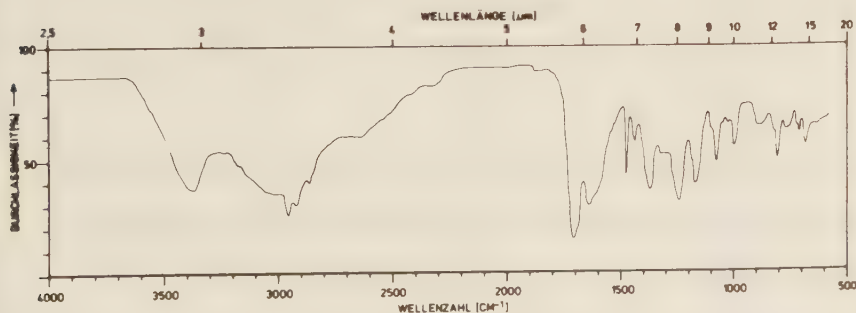


Abb. 6: IR-Spektrum von **51b** in KBr

Die Fragmentierung von **51a,b** im Massenspektrometer wird nachfolgend unter 3.6.2 beschrieben.

3.6.2 Massenspektrometrischer Abbau von **4a**, **51a**, **51b**

Der Übersichtlichkeit halber sind in den folgenden Fragmentierungsschemata sowie in den abgebildeten Massenspektren für die einzelnen Ausgangsverbindungen Großbuchstaben gewählt worden, und zwar "A" für **51a**, "B" für **4a** und "C" für **51b**. Der massenspektrometrische Abbau sei zunächst am Beispiel der Verbindung **4a** (= "B") erläutert. Vgl. dazu Abb. 7 und Fragmentierungsschemata 1-3 (die in der Mitte stehenden Massenzahlen sind maßgebend).

Die Fragmentierung von **4a** im Massenspektrometer wird durch die Fähigkeit des Moleküls zur Ausbildung der Enol- und der Ketoform bestimmt. Die Ausbildung der Ketoform scheint zumindest teilweise ein thermisch bedingter Prozeß zu sein, so daß im Einzelfall nicht mit Bestimmtheit gesagt werden kann, aus welcher tautomeren Form ein beobachtetes Fragment resultiert⁸⁵⁾.

Die Zusammensetzung des Molpeaks sowie einer Reihe von Fragmenten konnte durch hochauflösende Massenspektroskopie gesichert werden. Das Massenspektrum von **4a** läßt sich an Hand von drei Schemata erklären.

85) L. J. Haynes, A. Kirkien-Konasiewicz, A. G. Loudon und A. Maccoll, Org. Mass Spectrom. 1, 743 (1968)

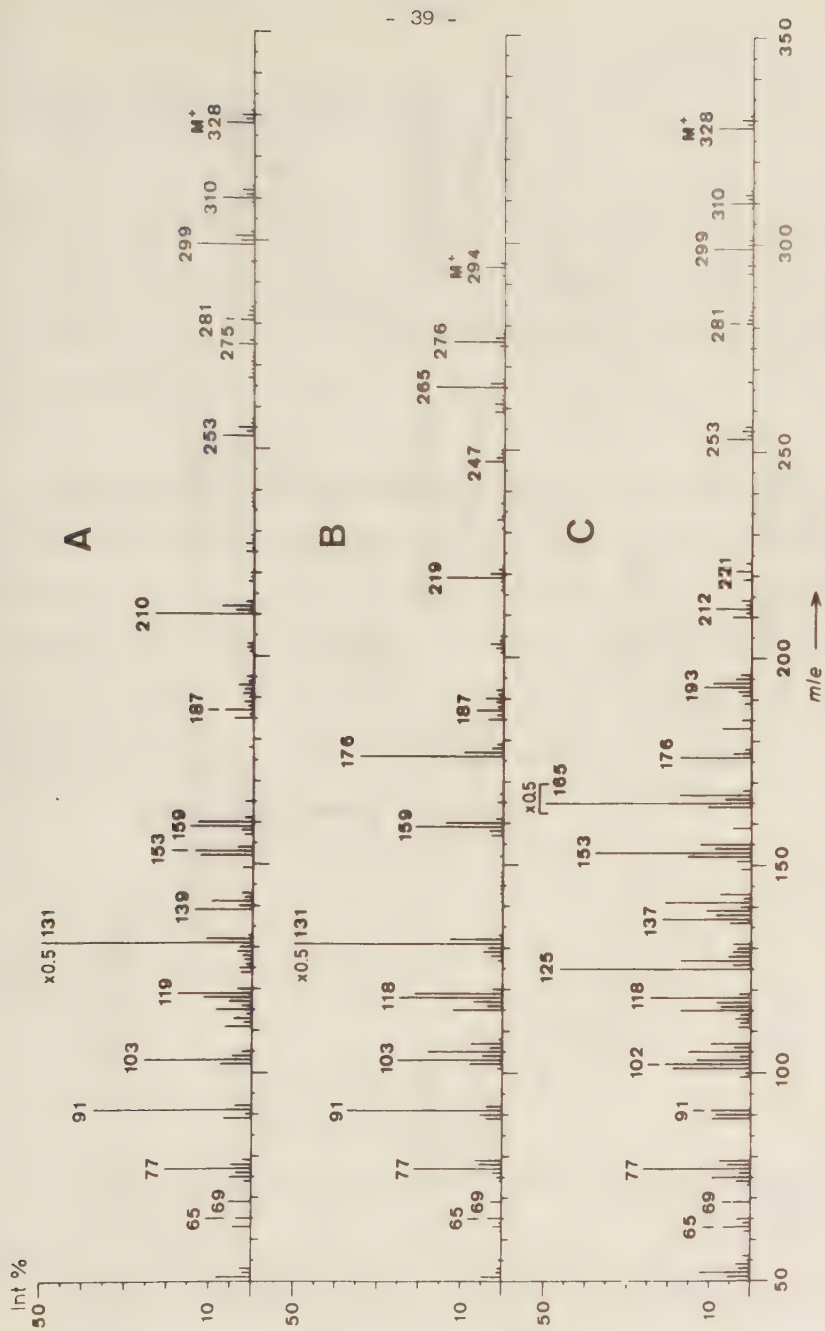
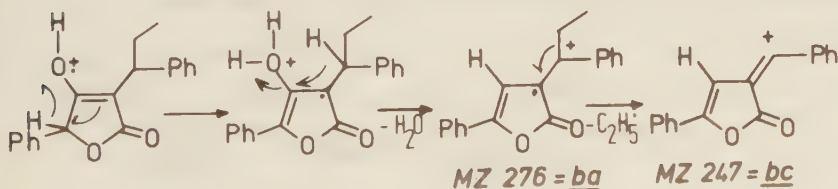


Abb. 7: Massenspektren von **4 a**, **51a**, **51b**

Fragmentierungsschema 1 (vgl. S. 40):

Aus dem Molekölion (MZ 294) wird Wasser unter Ausbildung des Ions ba (MZ 276) abgespalten, das dann Äthyl verliert und das Ion bc (MZ 247) liefert. Die Abspaltung von Wasser und Äthyl kann auch in umgekehrter Reihenfolge ablaufen, wie das Ion bb (MZ 265) zeigt.

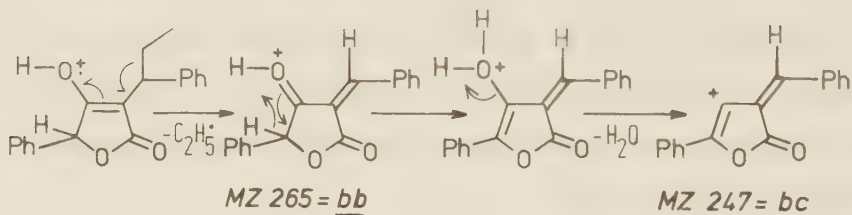
Der Mechanismus der Wasserabspaltung ist ungeklärt. Während HAYNES et al.⁸⁵⁾ eine Beteiligung des Wasserstoffs in 5-Stellung vermuten, wird dies von BALLANTINE et al.⁸⁶⁾ angezweifelt. Ein weiterer möglicher Mechanismus für den Wasseraustritt wäre z. B. der folgende, der zwar diesen Meinungsstreit nicht klären soll, aber die nachfolgende Abspaltung von Äthyl plausibel macht (die Formulierung einer Hydridwanderung ist in der Literatur nicht unüblich, wenn auch nicht häufig⁸⁷⁾):



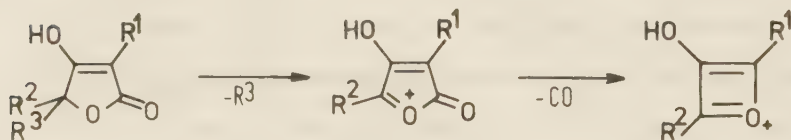
86) J. A. Ballantine, R. G. Fenwick und V. Ferrito, Org. Mass. Spectrom. 1, 761 (1968)

87) Vgl. (inter al.): (a) loc. cit. 85), S. 748; (b) J. T. Bursey, M. M. Bursey und D. G. I. Kingston, Chem. Rev. 73, 203, 224; (c) J. Seibl, Massenspektrometrie, S. 63, Akadem. Verlagsgesellschaft, Frankfurt/M. 1970

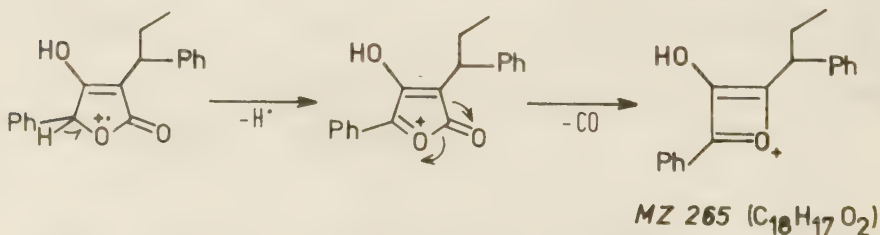
Entsprechend könnte der Vorgang in umgekehrter Reihenfolge ablaufen:



MZ 265 könnte allerdings auch durch "CO + H" - Elimination aus dem Molekül entstanden sein. Einen entsprechenden Mechanismus formulieren HAYNES et al. ⁸⁵⁾:



Eine analoge Fragmentierung für **4a** würde ein Ion mit MZ 265 liefern:



Durch Hochauflösung ließ sich jedoch zeigen, daß diese Fragmentierung ($\text{M}^+ - \text{H}^\bullet - \text{CO}$) nicht erfolgt, da ein Fragment der angegebenen Summenformel nicht auftritt. MZ 265 kommt vielmehr die Summenformel $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{O}_3$ zu, der die

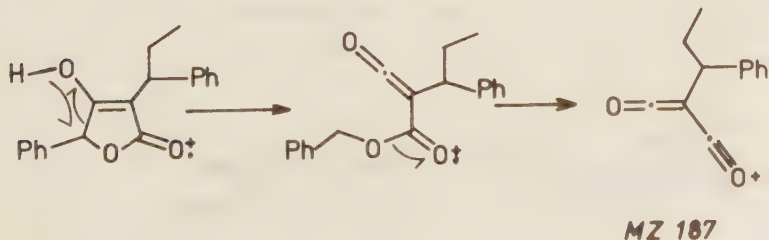
für bb formulierte Struktur entspricht.

Das Ion bc liefert unter CO-Eliminierung dann das Ion bd (MZ 219).

Von Interesse ist das Ion aa mit MZ 266, das ein Isotopenpeak zu MZ 265 = bb oder aus dem Molekülion durch Verlust von CO entstanden sein könnte. Nach der Hochauflösung trifft keine der beiden Möglichkeiten zu. MZ 266 = aa muß vielmehr durch Verlust von Äthylen aus dem Molekülion entstanden sein.

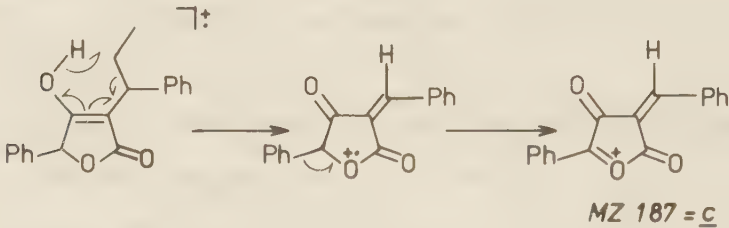
Entsprechend ist auch von HAYNES et al.⁸⁵⁾ aus 3-Propyltetronsäure Äthylen-, aus 3-n-Butyltetronsäure Propen-, aus 3-n-Pentyltetronsäure 1-Butenabsplaltung beobachtet worden. Ebenfalls im Einklang mit den Beobachtungen von HAYNES et al. für die genannten Verbindungen steht der Verlust von Wasser aus aa unter Ausbildung von ab (MZ 248).

Dem Ion c mit MZ 187 kommt nach der Hochauflösung die Summenformel $C_7H_{11}O_3$ zu. Entsprechende Fragmente wurden von den genannten Autoren^{85), 86)} nicht beobachtet. Zwar liefert der folgende, von BALLANTINE et al.⁸⁶⁾ formulierte Weg ebenfalls ein Fragment mit MZ 187:

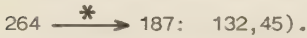


Damit ist jedoch die gefundene Summenformel nicht in Einklang zu bringen.

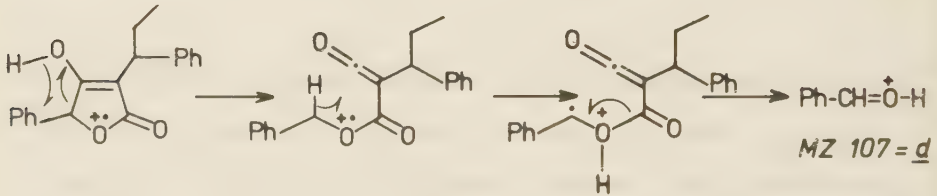
Dagegen könnte folgender Prozeß abgelaufen sein:



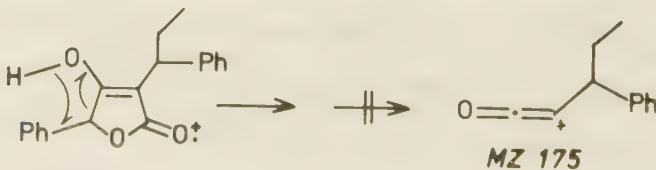
Bestätigt wird dieser Weg durch einen metastabilen Peak bei 132,4 (ber. :



Ion d dürfte, wie BALLANTINE et al.⁸⁶⁾ durch Untersuchungen von 4-Deutero-oxytetronsäure feststellten, durch H-Wanderung auf folgendem Weg entstanden sein:



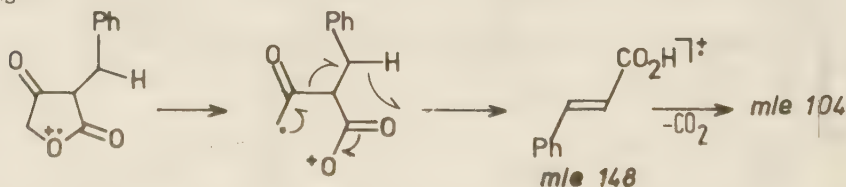
Der von denselben Autoren beschriebene "top half - H" - Zerfall, der zu einem Ion mit MZ 175 führen müßte, wurde jedoch nicht beobachtet:



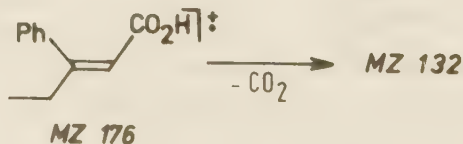
Fragmentierungsschema 2 (vgl. S. 45):

Durch McLafferty-Umlagerung entsteht aus der Ketoform von **4a** das Fragment ia (MZ 176), dem auch die Struktur ib zukommen könnte. Mit 34 % vom Basispeak ist es das drittstärkste Fragment des Massenspektrums. Daneben liefert eine "McLafferty + 1" - Umlagerung⁸⁸⁾ das Ion j (MZ 177). Entsprechende Fragmente wurden auch von HAYNES et al.⁸⁵⁾ in den Massenspektren von 3-Propyl-, 3-n-Butyl- und 3-n-Pentyltetronsäure beobachtet und beschrieben.

Für 3-Benzyltetronsäure formulieren HAYNES et al.⁸⁵⁾ folgende Fragmentierung:



Die entsprechenden Fragmente aus **4a** besäßen MZ 176 bzw. MZ 132:



Das hochaufgelöste Massenspektrum zeigt jedoch eindeutig, daß den Fragmenten mit diesen MZ die formulierten Strukturen bzw. die sich daraus ableitenden

88) F. W. McLafferty, Interpretation of Mass Spectra, 2. Aufl., S. 68, W. A. Benjamin, Inc., Reading (Mass.) 1973

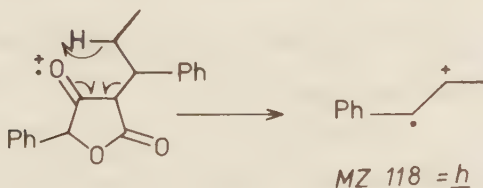
Summenformeln nicht zukommen.

Dem hochaufgelösten Massenspektrum konnte nicht mit Sicherheit entnommen werden, ob es sich bei MZ 177 um einen Isotopenpeak von MZ 176, also um ein Fragment der Zusammensetzung $^{12}\text{C}_9\ ^{13}\text{C}\text{H}_8\text{O}_3$, oder um das Ion j handelt. Durch Analyse der relativen Intensitäten der Peaks m/e 176 und m/e 177 ergab sich jedoch, daß m/e 177 dem Fragment j mit der Zusammensetzung $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3$ zuzuordnen ist (relative gefundene Intensitäten m/e 176:m/e 177 = 100:26,9; berechnet für Isotopenpeak m/e 177: 100:11,05). Ein metastabiler Peak bei 106,5 bestätigt dieses Ergebnis (ber.: $294 \xrightarrow{*} 177$: 106,56).

Unmittelbar aus der Ketoform dürfte wahrscheinlich auch das Ion ga mit MZ 119 entstanden sein, das nach Umlagerung und Äthylenabspaltung Ion gb (MZ 91) und weiter Ion gc (MZ 65) liefert.

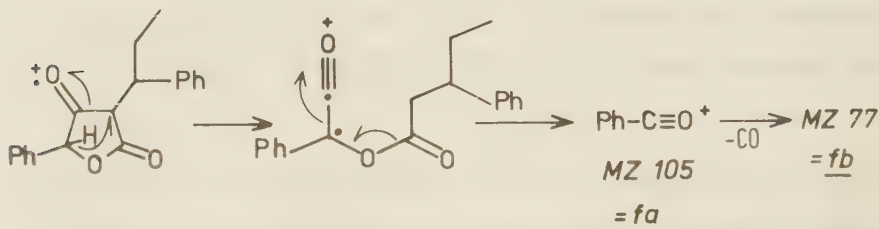


Ion h (MZ 118) könnte folgendermaßen entstanden sein:



Die zugehörige Summenformel C_9H_{10} wird durch das hochaufgelöste Massenspektrum bestätigt. Ob daneben MZ 118 aber auch noch die Struktur des Ions m (s. Fragmentierungsschema 3) zukommen kann, ließ sich aus der Hochauflösung nicht eindeutig beantworten.

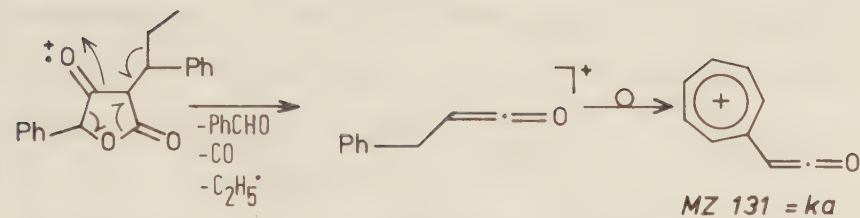
Ion fa (MZ 105) und durch CO-Abspaltung daraus Ion fb (MZ 77) könnten durch Bindungsbruch C-3/C-4 und α, α' -H-Wanderung⁸⁹⁾ aus dem Molekülion entstanden sein:



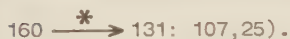
Das Ion ka mit MZ 131 liefert den Basispeak. Dem Ion dürfte nach der Hochauflösung die angegebene Struktur zukommen; ein metastabiler Peak bei 58,4 bestätigt die unmittelbare Bildung aus dem Molekülion (ber.: $294 \xrightarrow{*} 131$; 58,37). Die weitere Fragmentierung ist aus Fragmentierungsschema 3 ersichtlich.

Der Entstehungsmechanismus könnte analog dem von HAYNES et al.⁸⁵⁾ für Benzyltetronsäure formulierten abgelaufen sein:

89) loc. cit. 87) (c), S. 146



Möglich ist aber auch die Bildung aus Ion la (MZ 160) (s. Fragmentierungsschema 3); auch hierfür findet sich ein metastabiler Peak: 107,3 (ber.:

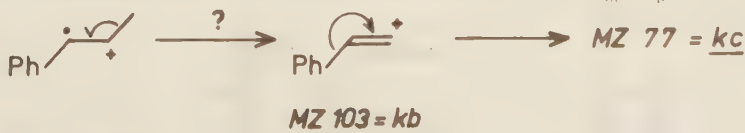


Fragmentierungsschema 3 (vgl. S. 50):

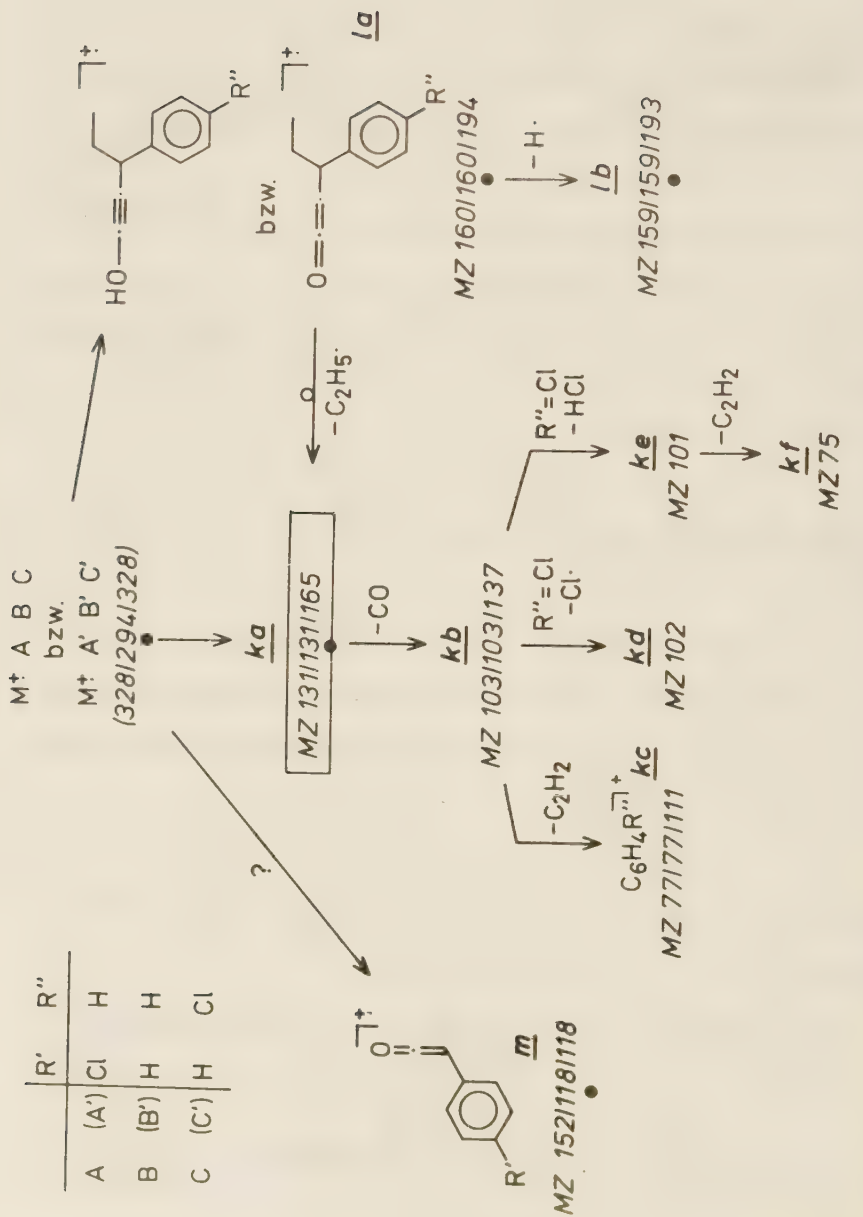
Durch CO-Abspaltung entsteht aus Ion ka das Ion kb (MZ 103), was durch einen metastabilen Peak bei 81 bestätigt wird (ber.: $131 \xrightarrow{*} 103: 80,98$).

kb schließlich liefert unter Acetylenabspaltung kc (metastabiler Peak bei 57,6; ber.: $103 \xrightarrow{*} 77: 57,56$).

Denkbar wäre die Bildung von kb bzw. kc auch aus Ion h (Fragmentierungsschema 2) mit MZ 118 durch **Abspaltung von Methyl**:



Ion Ia (MZ 160) schließlich könnte aus der Keto- oder der Enolform nach



verschiedenen Mechanismen entstanden sein. Seine Summenformel ist durch Hochauflösung gesichert. Wie bereits erwähnt, könnte es unter Äthylabspaltung ebenfalls Lieferant des Basispeaks sein. Durch H-Abspaltung kann aus 1a außerdem Ion 1b (MZ 159) entstehen.

Alle wesentlichen Peaks des Massenspektrums von **4a** lassen sich somit an Hand der Fragmentierungsschemata 1-3 zwanglos erklären. Größtenteils konnten sie durch hochauflösende Massenspektrometrie gesichert werden, so daß damit auch die Struktur von **4a** gesichert erscheint.

Die Fragmentierung von **51a** und **51b** im Massenspektrometer entspricht völlig dem für **4a** im einzelnen ausgeführten Muster. Die alternierende Chlorsubstitution der beiden Aromaten erlaubt eine eindeutige Zuordnung bestimmter Fragmente der Massenspektren und stützt so die Annahme bestimmter Abbauege.

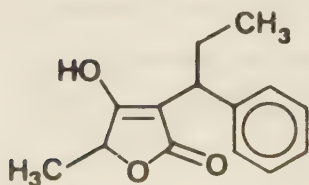
So läßt eine vergleichende Betrachtung der Fragmentierungsschemata erkennen, daß Ion c mit MZ 187 tatsächlich den Aromaten in C-5 nicht mehr besitzt, da Molekül "A" (= **51a**) im Massenspektrum ebenfalls MZ 187 aufweist, während Molekül "C" (= **51b**) stattdessen ein Fragment mit MZ 221 liefert.

Auch der Basispeak ist im Massenspektrum von "C" nicht mehr mit MZ 131,

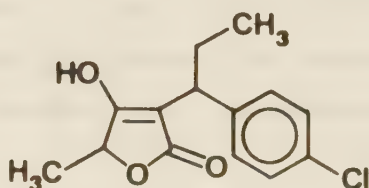
sondern mit MZ 165 gegeben, ein Fragment, das in den Massenspektren von "A" und "B" praktisch völlig fehlt. Auch die Bildung von MZ 77 aus beiden Aromaten ist gut zu verfolgen (vgl. Ion fb und kc in Fragmentierungsschema 2 bzw. 3).

Schließlich findet der angegebene Weg zur Bildung von Ion d (vgl. Fragmentierungsschema 1 und S.44) eine weitere Stützung durch die Tatsache, daß MZ 107 im Massenspektrum von "A" völlig fehlt, dafür aber MZ 141 auftritt.

3.6.3 Synthese von **51c** und **51d**



51c



51d

Auch **51c** und **51d** konnten entsprechend der Darstellung von **4a** durch Zyklisierung der jeweils zugrundeliegenden Acylalkylmalonester **46** (s. Schema II, S. 28) mittels Natriummethylat in wasserfreiem Benzol gewonnen werden, womit sich die neue Darstellungsmethode als allgemein anwendbar erwies.

Den Beweis für die Struktur von **51c,d** erbrachten die ^1H -NMR-Spektren (s. Tabelle 1, S. 55) und die IR-Spektren, für die stellvertretend das von **51d** in Abb. 8 gezeigt ist.

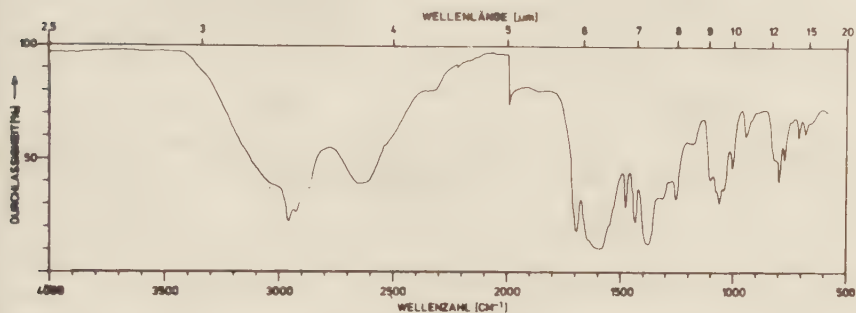


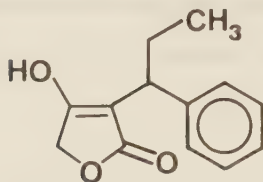
Abb. 8: IR-Spektrum von **51d** in KBr

Darüber hinaus wurde die Struktur von **51d** durch eine unabhängige Synthese gesichert: Propionyllessigester (hergestellt nach ANDERSON und Mitarbeiter⁶⁴⁾) wurde mit 1-(4-Chlorphenyl)-propylbromid alkyliert, anschließend bromiert⁹⁰⁾ und schließlich durch Erhitzen zyklisiert⁴⁸⁾.

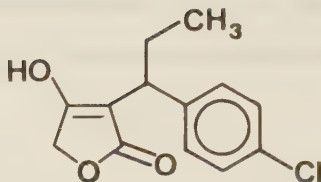
Die Massenspektren von **51c,d** sollen im Zusammenhang mit denjenigen der Verbindungen **51e,f** erläutert werden (s. 3.6.5).

90) Bei der Bromierung des 2-Alkylacetessigesters entsteht primär der 2-Alkyl-2-bromacetessigester, der sich anschließend in Gegenwart von Luftsauerstoff und HBr zum 2-Alkyl-4-bromacetessigester umlagert. Vgl. A. Hantzsch, Ber. Deut. Chem. Ges. 27, 355, 3168 (1894); M. S. Kharasch, E. Sternfeld und F. R. Mayo, J. Amer. Chem. Soc. 59, 1655 (1937)

3.6.4 Synthese von **51e** und **51f**



51e



51f

Zur Darstellung von **51e,f** wurde Acetessigester nach LAUER und KILBURN⁹¹⁾ mit 1-Phenylpropylbromid (**40**) (aus Äthylphenylcarbinol (**39**) analog ROEDIG⁹²⁾) bzw. analog dieser Vorschrift mit 1-(4-Chlorphenyl)-propylbromid (**59**) (aus Äthyl-4-chlorphenylcarbinol (**58**) analog ROEDIG⁹²⁾) zum entsprechenden 2-Alkylacetessigester alkyliert, der nach Bromierung zum 2-Alkyl-4-bromacetessigester⁹⁰⁾ thermisch zu **51e** bzw. **51f** zyklisiert wurde⁴⁸⁾.

Die Strukturen von **51e,f** ließen sich NMR-, massen- und IR-spektroskopisch sichern. Die Lage der ¹H-NMR-Signale ist in Tabelle 1, S. 55 aufgeführt.

Abb. 9 zeigt das IR-Spektrum von **51f** stellvertretend für beide Verbindungen.

Die Massenspektren (s. Abb. 11, S. 59) registrieren jeweils das Molekülion bei MZ 218 (**51e**) bzw. MZ 252 (**51f**). Sie werden nachfolgend besprochen.

91) W. M. Lauer und E. I. Kilburn, J. Amer. Chem. Soc. 59, 2586 (1937)

92) A. Roedig in Methoden der organischen Chemie (Houben-Weyl-Müller), 4. Aufl., Bd. V/4, S. 18 und 382, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1960

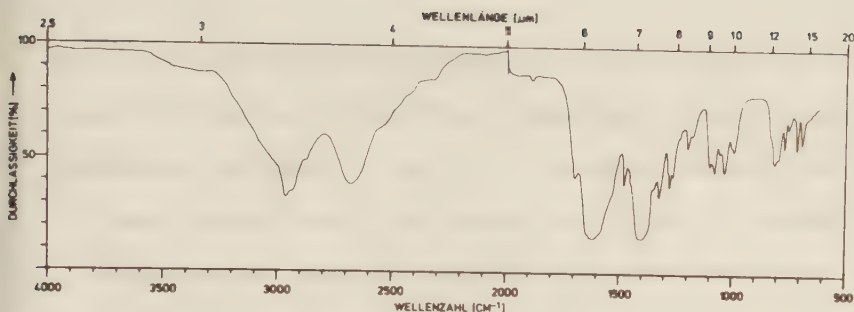


Abb. 9: IR-Spektrum von **51 f** in KBr

	H _{arom.}	H-5	H-3(1)	H-3(2)	H-3(3)	OH *	CH ₃
51a	7,38 (m)	5,78 (s)	3,7 (t) (J=8 Hz)	2,0 (m)	0,89 (t) (J=7 Hz)	9,7-13,3	
51b	7,33 (s) (breit)	5,75 (s)	3,7 (t) (J=8 Hz)	2,0 (m)	0,88 (t) (J=7 Hz)	10,5-12,1	
51c	7,27 (m)	4,76 (q) (J=6,5 Hz)	3,55 (t) (J=8 Hz)	1,93 (m)	0,81 (t) (J=7 Hz)	10,5-12,5	1,31 (d) (J=6,5 Hz)
51d	7,32 (s)	4,78 (q) (J=6,5 Hz)	3,57 (t) (J=8 Hz)	1,92 (m)	0,81 (t) (J=7 Hz)	9,7-12,1	1,34 (d) (J=6,5 Hz)
51e	7,26 (m)	4,6 (s)	3,53 (t) (J=8 Hz)	2,0 (m)	0,89 (t) (J=7 Hz)	11 -12	
51f	7,36 (s)	4,63 (s)	3,58 (t) (J=8 Hz)	1,98 (m)	0,81 (t) (J=7 Hz)	10 -13	
* = austauschbar mit D ₂ O							

Tab. 1: Zusammenstellung der ¹H-NMR-Signale der in DMSO-d₆ aufgenommenen ¹H-NMR-Spektren von **51a-f**. Vgl. dazu Erläuterungen zum Spektrum von **4a** auf S. 29 ff. Das Signal der enolischen OH-Gruppe erscheint in der Regel stark verbreitert. Angaben der chemischen Verschiebung in ppm (δ-Skala).

3.6.5 Massenspektrometrischer Abbau von **51c-f**

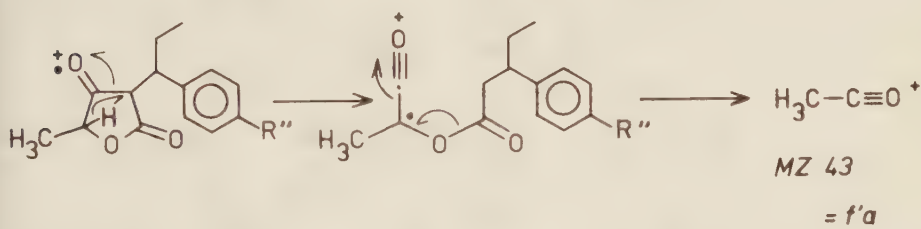
Der Übersichtlichkeit halber sind im folgenden Fragmentierungsschema 4 (S. 60) sowie in den abgebildeten Massenspektren für die einzelnen Ausgangsverbindungen Großbuchstaben gewählt worden, und zwar "D" für **51d**, "E" für **51c**, "F" für **51e** und "G" für **51f**. Die Massenzahlen sind im Fragmentierungsschema in der Reihenfolge D, E, F, G (**51d**, **51c**, **51e**, **51f**) angegeben.

Das Fragmentierungsmuster von **51c-f** (vgl. Fragmentierungsschema 4) entspricht weitgehend dem für **4a**, **51a** und **51b** entwickelten (vgl. Fragmentierungsschema 1-3 und Erläuterungen dazu). Zum besseren Vergleich sind im Fragmentierungsschema 4 Fragmente, die den in Fragmentierungsschema 1-3 aufgezeigten entsprechen, auch entsprechend bezeichnet (a'a in Fragmentierungsschema 4 entspricht also aa in Fragmentierungsschema 1 usw.).

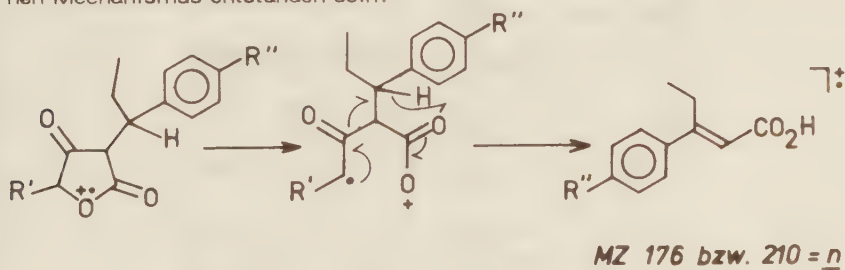
Auch bei **51c-f** ist die Abspaltung von Wasser mit nachfolgender Äthyleliminierung (und vice versa) unter Ausbildung der Ionen b'a, b'b und b'c zu beobachten. Auffällig ist, daß ein weiterer Abbau von b'c unter CO-Abspaltung zu einem Fragment b'd offenbar nicht in nennenswertem Umfang stattfindet.

Den Basispeak liefert interessanterweise nicht das Fragment k'a, sondern das Fragment g'b mit MZ 125/91/91/125. Entsprechend sind auch die Intensitäten der Fragmente g'a (MZ 153/119/119/153) wesentlich stärker, die der

Fragmente l'a mit MZ 194/(160)/(160)/194 wesentlich schwächer bzw. kaum noch auszumachen. Das Fragment l'b (MZ 193 bzw. 159) spielt praktisch nur noch für **51c** (= "E") und **51d** (= "D") eine Rolle. Für diese beiden Verbindungen ist diagnostisch wertvoll das Fragment f'a (MZ 43), das analog fa entstanden sein könnte:



Das Fragment n schließlich (MZ 210/176/176/210) kann hier nur aus dem rechten Teil des Moleküls kommen (vgl. dagegen Fragment i in Fragmentierungsschema 2!) und könnte nach dem von HAYNES et al.⁸⁵⁾ vorgeschlagenen Mechanismus entstanden sein:



Eine zu einem Fragment i' führende McLafferty-Umlagerung, wie sie für **4a**, **51a**, und **51b** zu beobachten war, findet hier also allenfalls in sehr untergeordnetem Maße statt.

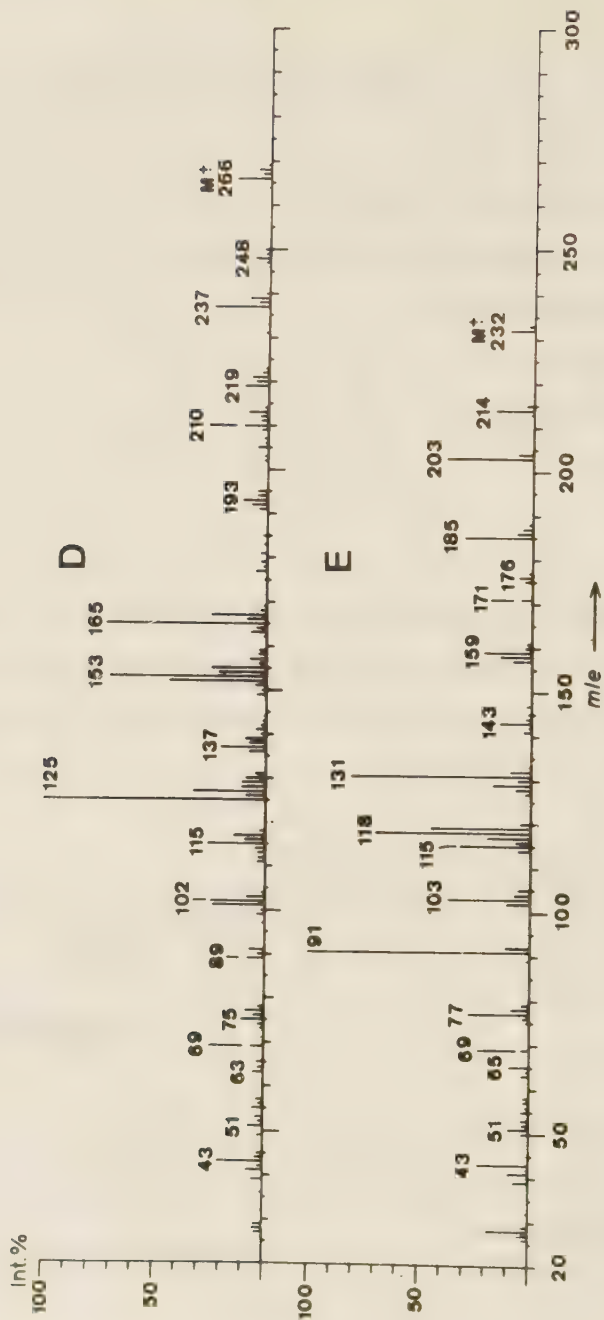


Abb. 10: Massenspektrum von **51d,c**. Vgl. Erläuterungen S. 56

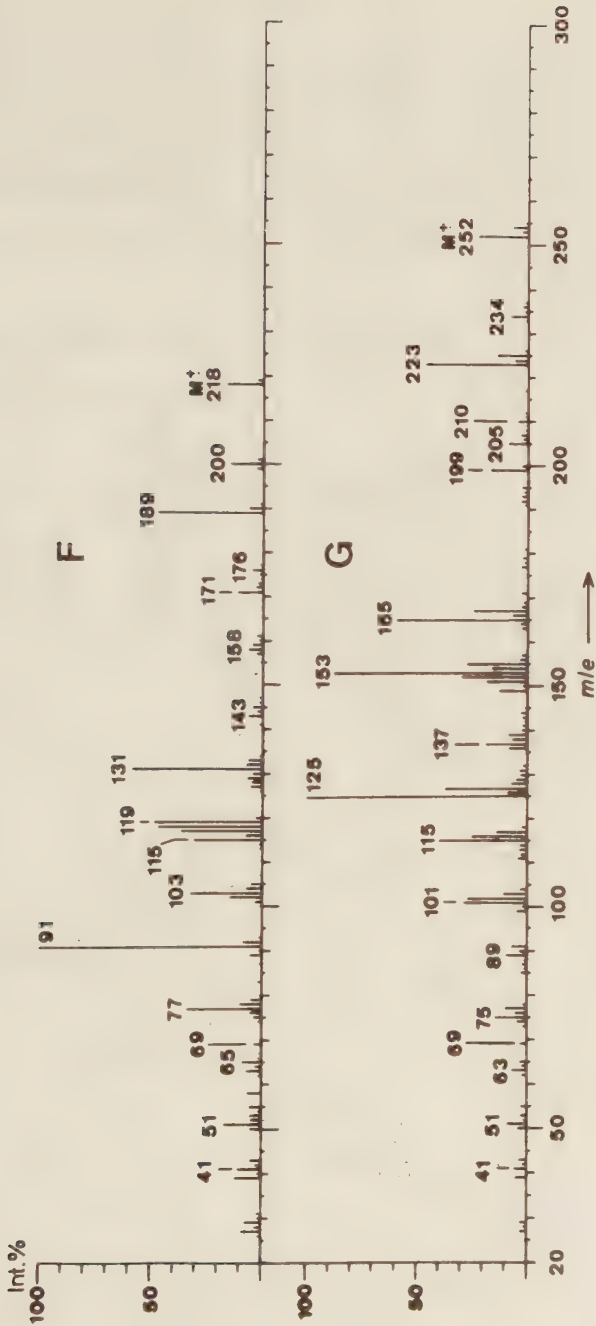


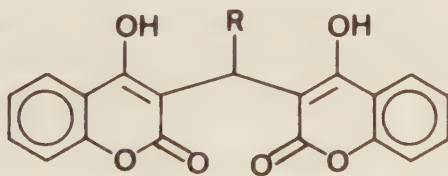
Abb. 11: Massenspektrum von **51e,f**. Vgl. Erläuterungen S. 56

Die Herkunft der Fragmente mit MZ 115 ist unklar. Für **51c** und **51d** ließe sich zur Erklärung zwar noch eine "McLafferty + 1" - Umlagerung formulieren, bei **51e, f** führt diese jedoch formal zu m/e 101, wofür aber auch $\underline{k'e}$ ($\underline{k'b} - \text{HCl}$) formuliert werden kann.

Fragmente und Abbauwege sind also vereinbar mit den für **51c-f** angegebenen Strukturen und untermauern sie.

3.7 Synthese von Bis-tetronsäuren

Da 3,3'-Methylenbis-(4-hydroxycumarin) (**52a**) und 3,3'-Äthylidenbis-(4-hydroxycumarin) (**52b**) im tierischen Organismus Antikoagulanswirkung entfalten^{8), 93)}, lag es nahe, die entsprechenden Verbindungen **53a** und **53b** herzustellen, um sie ebenfalls im Tierversuch zu testen.

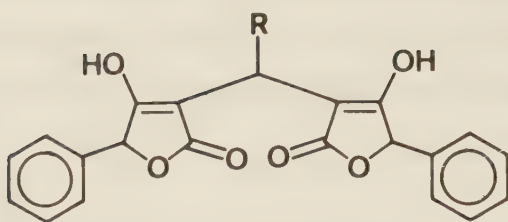


52

52a R = -H

52b R = -CH₃

93) M. A. Stahmann, C. F. Huebner und K. P. Link, J. Biol. Chem. 138, 513 (1941)



53

53a R = -H

53b R = -CH₃

Unter Ausnutzung der von WOLFF und SCHIMPF¹⁹⁾ beobachteten Reaktivität der 3-Stellung der Tetronsäure (**5**) gegenüber Aldehyden und Ketonen sollte die Umsetzung von **32** mit Formaldehyd zu **53a** glatt verlaufen. Nach Angaben der genannten Autoren scheidet sich aus einer konzentrierten wäßrigen Lösung von **5** nach Zugabe überschüssigen Formaldehyds das entsprechende Methylenbisprodukt nach kurzer Zeit kristallin ab.

Dieses Verfahren versagt jedoch bei **32**, vermutlich wegen der sehr geringen Wasserlöslichkeit dieser Verbindung. **53a** ließ sich jedoch darstellen, indem zu einer heißen wäßrigen Lösung von **32** nach Zugabe einiger Tropfen konzentrierter Salzsäure unter Rühren ein Überschuß an 35 %-iger Formaldehydlösung getropft wurde.

Man erhält **53a** auch, wenn man **32** statt in heißem Wasser in absolutem Äthanol löst und nach Zugabe von konzentrierter Salzsäure und 35 %-iger Form-

aldehydlösung zwei Stunden bei 70°C rührt.

In ähnlicher Weise entsteht aus **32** und Acetaldehyd **53b**.

Das Massenspektrum (s. Abb. 13) und das ^1H -NMR-Spektrum bestätigen, daß die gewünschten Verbindungen entstanden sind. Als Beispiel sei das NMR-Spektrum von **53b** (in DMSO-d_6) angeführt:

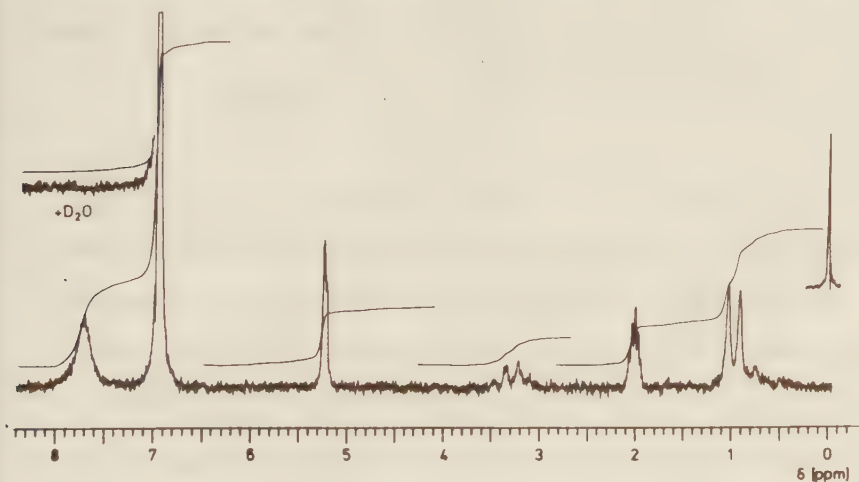


Abb. 12: ^1H -NMR-Spektrum von **53b** in DMSO-d_6 (Reg.-Ber. um 30 Hz versch.)

Die Methylprotonen der Äthylidengruppe erscheinen als Dublett ($J=7$ Hz) bei $\delta = 1,46$ ppm, das Methinproton der Äthylidengruppe tritt bei $\delta = 3,78$ ppm als Quartett ($J=7$ Hz) auf. Ein leicht angespaltenes Singulett bei $\delta = 5,73$ ppm

ist den beiden Protonen in 5- bzw. 5'-Stellung zuzuordnen. Die aromatischen Protonen sind bei $\delta = 7,42$ ppm als Singulett mit breiter Basis zu erkennen. Ein sehr breites Signal bei $\delta = 8,0-8,5$ ppm dürfte den enolischen OH-Gruppen zuzuordnen sein; es verschwindet nach D_2O -Zugabe.

3.7.1 Abbau von **53a** und **53b** im Massenspektrometer

Der Übersichtlichkeit halber sind im Fragmentierungsschema 5 die Ausgangsverbindungen mit Großbuchstaben bezeichnet: "H" steht für **53b**, "I" für **53a**. Die Massenzahlen sind in der Reihenfolge "H", "I" angegeben.

Das Fragmentierungsmuster der beiden Verbindungen wird vor allem durch die offenbar bevorzugt ablaufende Spaltung der beiden Molekülteile am verbindenden C-Atom bestimmt. Dadurch treten Fragmentierungen aus dem ungeteilten Gesamtmolekül, die den Teil des Spektrums mit höheren Massenzahlen ausmachen (s. Abb. 13, S. 65: jeweils die rechte Hälfte von Spektrum "H" und "I"), in den Hintergrund. Die im linken Teil der Spektren auftretenden Fragmente niedrigerer Massenzahlen stammen vorwiegend aus dem Abbau der bei der Trennung der Molekülhälften entstehenden 5-Phenyltetronsäure (Ion pa mit MZ 176 im Fragmentierungsschema 5), deren Massenspektrum "K" zum Vergleich ebenfalls angeführt ist. Es stimmt mit dem von HAYNES et al.⁸⁵⁾ veröffentlichten Spektrum von 5-Phenyltetronsäure völlig überein. Seine Fragmente finden sich in den Spektren "H" und "I" wieder.



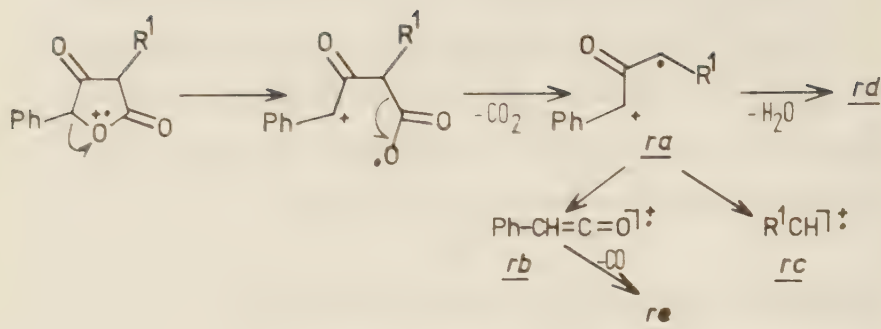
Abb. 13: Massenspektren von 53b, 53a, 32

Dazu muß angemerkt werden, daß die Aufnahme von Spektrum "H" große Schwierigkeiten bereitete und in der abgebildeten Form nur mit kalter Ionenquelle möglich war. Bei heißer Ionenquelle wurde kein Molpeak registriert, und der rechte Teil des Spektrums war praktisch nicht vorhanden. Als erstes erkennbares Fragment erschien dann Ion ga mit MZ 202.

Aus dem Gesamtmolekül kann Wasser abspalten unter Bildung von Ion s (MZ 360/346), das bei **53b** (= "H") unter Methylabspaltung Ion sta (MZ 345) liefert. Auch die umgekehrte Reihenfolge ist möglich: Molekülion - CH₃ t (MZ 363) $\xrightarrow{-H_2O}$ sta. Dieser Weg entspricht dem bereits für **4a** besprochenen (vgl. Fragmentierungsschema 1 und Erläuterungen dazu).

Aus dem Bruchstück sta kann dann durch CO-Abspaltung Ion stb (MZ 317) entstehen.

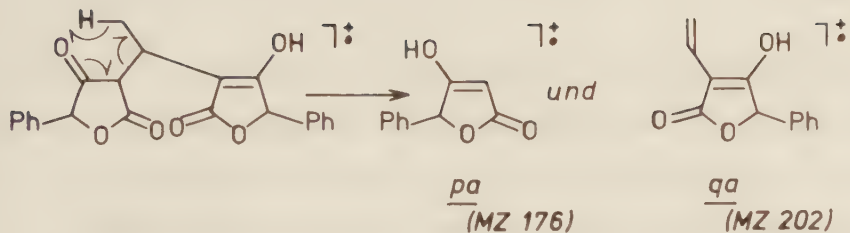
Direkt aus dem Molekülion entsteht auch - vermutlich durch CO₂-Abspaltung - Ion ra mit MZ 334/320, aus diesem dann durch Wasserabspaltung rd (MZ 316/302) oder durch Zerfall Ion rc (MZ 216/202) bzw. Ion rb (MZ 118/118). Dieser Weg stellt eine Abwandlung des von HAYNES et al.⁸⁵⁾ für Tetronsäuren formulierten Zerfalls dar, der bei **4a**, **51a-f** jedoch nicht zu beobachten war:



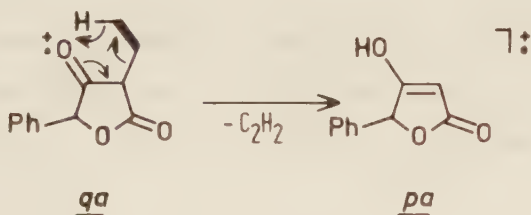
rc kann, da es ja noch ein Tetronsäuremolekül aufweist, dann natürlich noch weiter zerfallen: CO-Abspaltung, Wasserabspaltung usw. Diese Fragmentierungsschritte sind aber von untergeordneter Bedeutung.

Elimination von Benzaldehyd aus dem Molekülion liefert Ion ua (MZ 272/258), das unter CO-Abspaltung in das Fragment ub mit MZ 244/230 übergeht. Durch nochmalige CO-Abspaltung könnte ub auch rc liefern. Ion ud könnte durch Wasserabspaltung aus ua, Ion uc ebenso aus ub oder auch aus ud durch CO-Elimination entstanden sein. Dieser Weg scheint aber nur für **53a** (= "I") gegeben zu sein.

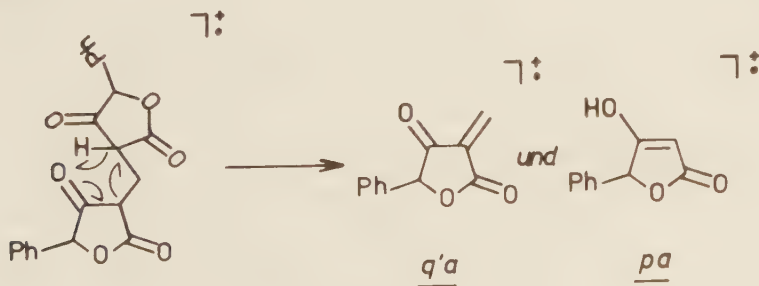
Ein ganz wesentlicher Fragmentierungsschritt ist, wie bereits erwähnt, die Spaltung der beiden Molekülhälften am verbindenden C-Atom. Bei **53b** (= "H") kann man für diesen Schritt eine McLafferty-Umlagerung formulieren:



qa kann durch CO-Abspaltung qb (MZ 174), dieses durch Benzaldehydelimination qc (MZ 68) liefern. Durch Acetylenabspaltung aus qa kann pa entstehen ⁹⁴⁾:



Eine entsprechende Spaltung von **53a**(= "I") erfolgt auch, allerdings nicht so vorrangig wie bei **53b**. q'a könnte beispielsweise folgendermaßen entstanden sein:



94) W. Benz, Massenspektrometrie organischer Verbindungen, S. 137, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/M. 1969

Ebenso wie qa kann auch q'a in q'b (MZ 160) und q'c (MZ 54) zerfallen.

Der massenspektrometrische Abbau von pa ist bei HAYNES et al.⁸⁵⁾ beschrieben. Wie aus dem Massenspektrum ersichtlich ist (s. Spektrum "K"), liefert oa (MZ 105) den Basispeak von pa. oa entspricht dem Fragment fa in Fragmentierungsschema 2 und ist gleichfalls Basispeak von **53a** und **53b**, was nicht verwunderlich ist, da dieses Fragment ja auch unmittelbar aus dem Molekülion entstehen kann. Durch CO-Abspaltung entsteht aus oa dann ob mit MZ 77.

Der massenspektrometrische Abbau von **53a** und **53b** steht im Einklang mit den angegebenen Formeln, so daß deren Struktur in Verbindung mit den NMR-Spektren gesichert erscheint.

TIEREXPERIMENTELLER TEIL

4 Gerinnungsphysiologische Prüfung der Substanzen

4.1 Allgemeines

Der sehr komplexe Vorgang der Blutgerinnung ist zwar in vielen Einzelheiten erforscht worden, über den exakten Ablauf und die dabei ineinandergreifenden Mechanismen herrscht bis heute jedoch keine endgültige Einigkeit. Ob sich aus dem Kaskadenmodell von DAVIE und RATNOFF⁹⁵⁾ und MACFARLANE⁹⁶⁾ und den von SEEGERs und Mitarbeitern⁹⁷⁾ entwickelten Vorstellungen ein einheitliches Modell erarbeiten läßt, bleibt abzuwarten. Die wichtigsten Reaktionsabläufe der Gerinnung erfolgen jedoch nach heutiger Kenntnis als Umsetzungen an Komplexen, die von den beteiligten Gerinnungsfaktoren gebildet werden⁹⁸⁾.

Das folgende, stark vereinfachte Schema III⁹⁹⁾ soll einen Eindruck hiervon vermitteln, dient aber im wesentlichen nur zur Erläuterung der wichtigsten Vorgänge bei der Blutgerinnung.

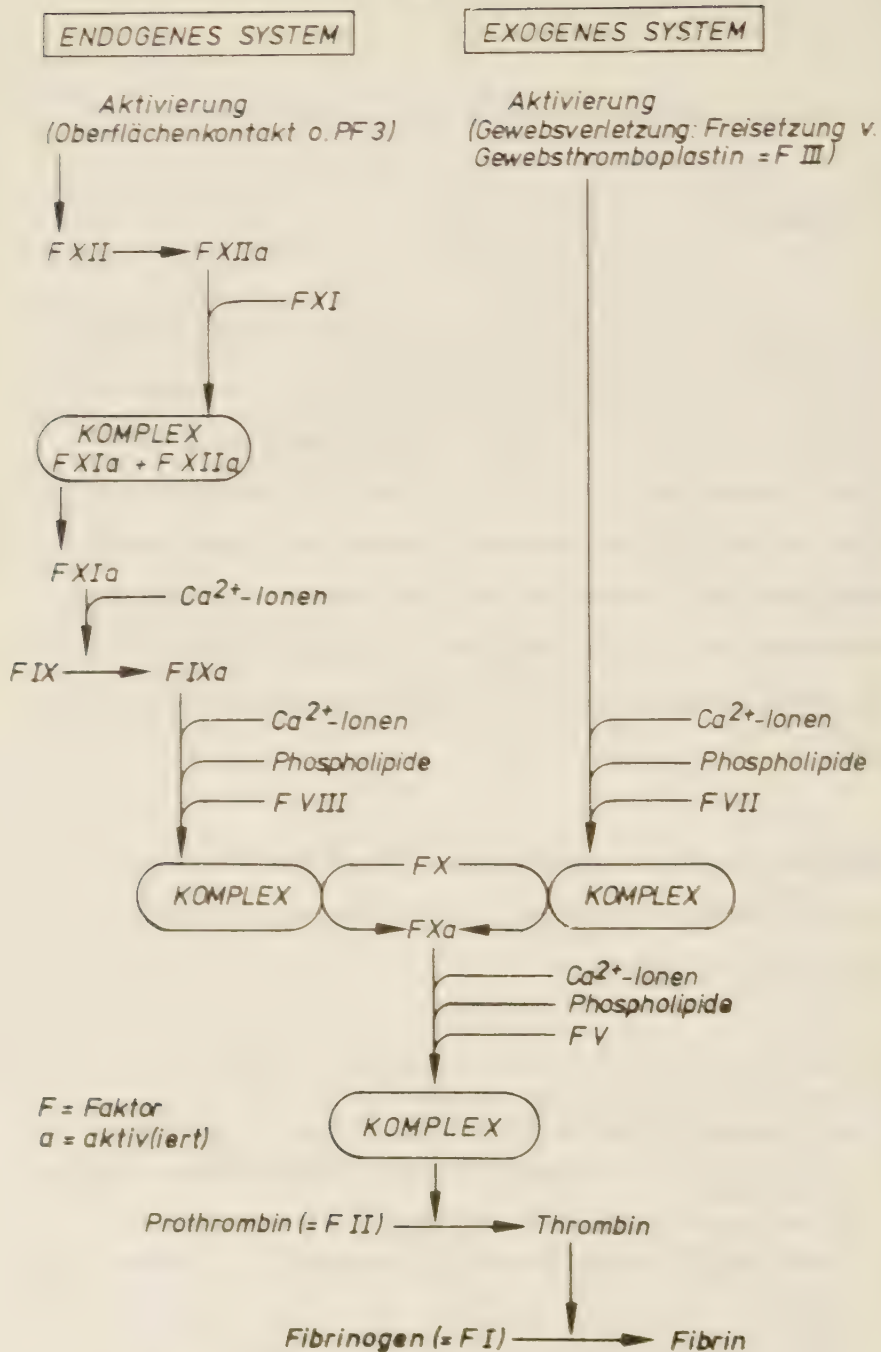
95) E. W. Davie und O. D. Ratnoff, *Science* 145, 1310 (1964)

96) R. G. Macfarlane, *Nature* 202, 498 (1964);
id., *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)*, Suppl. 17, 45 (1965)

97) Vgl. (inter al.): W. H. Seegers, *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)* 14, 213 (1965);
id., *Ser. Haemat.*, Vol. VI/4, 549 (1973)

98) I. Witt, *Biochemie der Blutgerinnung und Fibrinolyse*, S. 1, Verlag Chemie, Weinheim 1975

99) Schema III in Anlehnung an (a) loc. cit. 98), S. 7 ff. und (b) J. G. Meyer-Bertenrath, *Blutgerinnung und Fibrinolyse*, 3. Aufl., S. 15, Deutscher Ärzte-Verlag, Köln-Lövenich 1975



SCHEMA III: Ablauf der Blutgerinnung im plasmatischen System

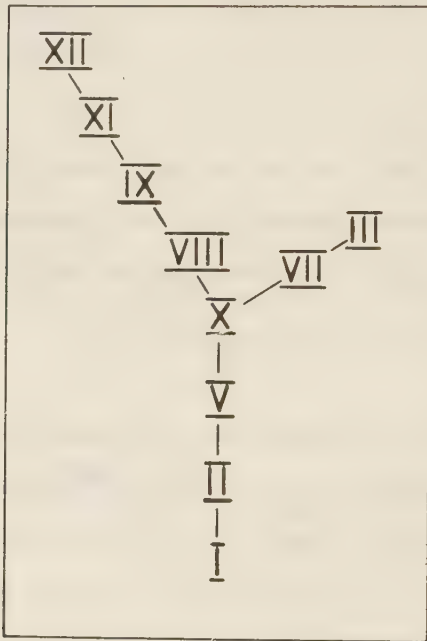
Durch Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin kommt es zur Gerinnse-
bildung. Diese Umwandlung wird durch Thrombin bewirkt, das seinerseits
aus dem im Blut vorhandenen Prothrombin (= Faktor II) entsteht. Dieser
letztgenannte Prozeß läuft unter der Einwirkung eines aus aktivem Faktor X
(= F Xa), Ca^{2+} -Ionen, Faktor V und Phospholipiden gebildeten Komplexes
ab. Zur Bildung dieses Komplexes kommt es durch Aktivierung des Faktors X,
was auf zwei Wegen geschehen kann: (a) exogen (b) endogen.

Exogen kommt es durch Gewebsläsion (z. B. Schnittwunde) zur Freiset-
zung des im Gewebe normalerweise getrennt von den übrigen Plasmafaktoren
vorliegenden Faktors III (= Gewebsthromboplastin), der nach Freisetzung zu-
sammen mit im Blut vorhandenen Ca^{2+} -Ionen, Phospholipiden und Faktor VII
einen Faktor X aktivierenden Komplex bildet.

Endogen wird der entsprechende Komplex auf wesentlich kompliziertere
Weise gebildet. Im (äußerlich) unverletzten Gefäß kommt es durch Kontakt
mit subendothelialen Schichten der Gefäßwand oder auch durch den aus den
Blutplättchen stammenden Plättchenfaktor 3 (= PF 3) zur Aktivie-
rung des Faktors XII (= HAGEMANN-Faktor). In vitro läßt sich diese Akti-
vierung durch Kontakt mit Glasoberflächen, Kaolin, Asbest u. a. m. herbei-
führen. Über einen Komplex wird Faktor XI aktiviert und bewirkt in der akti-
ven Form dann im Zusammenspiel mit Ca^{2+} -Ionen die Aktivierung von Fak-
tor IX. Aktiver Faktor IX (= F IXa) bildet schließlich zusammen mit Ca^{2+} -

Ionen, Phospholipiden und Faktor V den Faktor X aktivierenden Komplex des endogenen Systems.

Noch weiter vereinfacht lassen sich diese Vorgänge in folgendem Schema IV ¹⁰⁰⁾ darstellen:

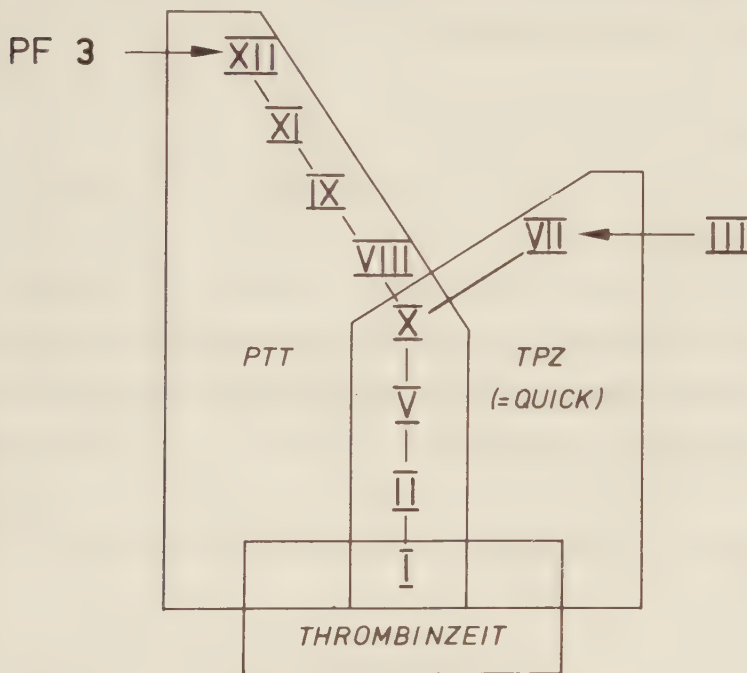


SCHEMA IV : Verknüpfung der Gerinnungsfaktoren im plasmatischen System

In dieses Schema läßt sich sehr übersichtlich einzeichnen, welche Faktoren

¹⁰⁰⁾ Schema in Anlehnung an K. Rehse, Pharmazie in unserer Z. 1, 5 (1975)

man bei den wichtigsten labormäßigen Untersuchungsmethoden (Thromboplastinzeit TPZ = Einphasengerinnungszeit nach QUICK, partielle Thromboplastinzeit PTT, Thrombinzeit) erfaßt (s. Schema V; Faktor III und Plättchenfaktor 3 = PF 3 werden im jeweiligen Test zugesetzt).



SCHEMA V : Möglichkeiten der Kontrolle von Gerinnungsfaktoren im Labor

Der Gerinnungsfaktor VII weist eine sehr kurze plasmatische Halbwertszeit auf (ca. 5 h), so daß sich zur Kontrolle der Gerinnungsfähigkeit des Blutes

kurze Zeit nach Applikation des betreffenden Antikoagulans der QUICK-Test sehr gut eignet.

Auch zur tierexperimentellen Prüfung der synthetisierten Substanzen wurde zunächst der QUICK-Test herangezogen.

4.2 Testung

4.2.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden 150-200 g schwere männliche Albinoratten vom Typ SPRAGUE-DAWLEY verwendet. Die Tiere erhielten ALTROMIN-Standarddiät für Ratten und Mäuse sowie Wasser ad lib.

4.2.2 Applikation der Substanzen

Die zu testenden Substanzen wurden im Achatmörser fein zerrieben, bevor von ihnen eine Suspension hergestellt wurde, die nach weitgehender Homogenisierung mittels Ultraschall den Tieren appliziert wurde. Als Vehikel wurde anfangs 1 %-ige Gummi-arabicum-Lösung, später 1 %-ige Methylzelluloselösung verwendet, der als Lösungsvermittler 1 % Tween 80^R zugesetzt wurde.

Die Applikation der jeweiligen Suspension erfolgte anfangs intraperitoneal.

Da aber einerseits bei intraperitonealer Gabe von Suspensionen stärkere Unterschiede in der Resorption nicht auszuschließen sind und andererseits die verabreichte Suspensionsmenge von 1 ml pro Tier doch erheblich schien, wurden die Suspensionen später nur noch oral mit Hilfe einer Schlundsonde gegeben, wobei die Tiere vorher nüchtern gestellt wurden. Von jeder Suspension wurde einmalig an drei Ratten je 1 ml gegeben.

4.2.3 Blutentnahme, Plasmagewinnung

In eine Spritze mit Maßeinteilung (Ablesegenauigkeit: 1/20 ml) wurden 0,1 ml einer Mischung aus gleichen Teilen 0,1-molarer Natriumcitratlösung und physiologischer Kochsalzlösung aufgezogen. Mit der so vorbereiteten Spritze wurde dem jeweiligen Tier dann mittels Herzpunktion Blut ad 0,5 ml entnommen. Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden Blut und Citrat/Kochsalzlösung sorgfältig unter Vermeidung von Schaumbildung durch mehrmaliges Hin- und Herkippen der Spritze miteinander vermischt. Durch die Technik der Herzpunktion konnte ein und demselben Tier bis zu dreimal am Tag und an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen Blut entnommen werden.

Die Blutentnahme erfolgte in bestimmten, vorher festgelegten Zeitabständen nach Applikation der Substanzen.

Das entcalcifizierte Blut wurde in ein Plastikzentrifugenglas überführt und an-

schließend in einer Eppendorf-Tischzentrifuge 2 Minuten lang bei 15 000 UpM zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde abpipettiert und zur Messung verwendet.

4.2.4 QUICK-Wert-Bestimmung (= TPZ-Bestimmung)

Da sich herausstellte, daß die einzelnen Ratten im unbehandelten Zustand unterschiedliche QUICK-Werte aufwiesen (bis zu 4 s Unterschied, abhängig vom jeweils gelieferten Tiermaterial), wurde für jede in den Test genommene Ratte ihre "individuelle" QUICK-Zeit bestimmt (= "Ausgangswert" = AW). Zur Kontrolle wurden mehrere Ratten in unbehandeltem Zustand an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen zweimal pro Tag punktiert und ihre QUICK-Werte bestimmt. Der "individuelle" QUICK-Wert blieb dabei konstant.

Für die TPZ-Bestimmung wurde das Koagulometer CU 500 der Fa. BIODYNAMICS verwendet.

Als Reagenz wurde Calcium-Thromboplastin der Behringwerke AG benutzt, dessen nach Vorschrift hergestellte Lösung 15 Minuten lang bei 37°C inkubiert wurde.

Die Küvette des Koagulometers wurde mit 0,2 ml der auf 37°C vorgewärmten Calcium-Thromboplastin-Lösung beschickt und in den Strahlengang des Ge-

rätes gebracht. Nach Nullstellung des elektronischen Zählwerkes wurden 0,1 ml des auf 37°C vorgewärmten Plasmas zu der Calcium-Thromboplastin-Lösung in der Küvette gegeben, wodurch das Zählwerk automatisch gestartet wurde. Die vom Zählwerk angezeigte Zeit (Genauigkeit: 0,1 s) wurde notiert, die Messung wiederholt.

4.3 Testung von **32**, **4a**, **53a**, **53b**

Jeweils drei Ratten wurden je 75 mg (entsprechend ca. 430 mg/kg *) **4a**, **32**, **53a** und **53b** i.p. verabreicht. Die Blutentnahme erfolgte mittels Herzpunktion 15, 39, 63 h nach Applikation.

Das mit **4a** behandelte Rattenkollektiv war nach 15 h an inneren Blutungen im Brustkorb gestorben.

32, **53a**, **53b** erwiesen sich als unwirksam.

*) Die Umrechnung erfolgte auf der Basis eines mittleren Rattengewichtes von 175 g. Die Aussagekraft der so erhaltenen Werte ist jedoch gering einzuschätzen, da eine exakte Korrelation zwischen Rattengewicht und Dosis hier offenbar nicht gegeben ist; denn 200 g schwere Ratten reagierten teilweise auf dieselbe Dosis stärker als 150 g schwere Ratten. Im Mittel zeigte sich, daß das Rattengewicht innerhalb der 150-200 g-Grenzen für das Ausmaß der Wirkung unerheblich war. Insofern erscheint die Wahl der Basis von 175 g für die Umrechnung willkürlich.

Der Versuch wurde mit 5, 10 und 50 mg (entsprechend ca. 30, 60 und 285 mg/kg)

4a wiederholt. Nach intraperitonealer Gabe zeigte sich bei 5 mg (entsprechend ca. 30 mg/kg) nur in einem Fall nach 14 h eine geringe Erhöhung des QUICK-Wertes gegenüber der Norm, bei 10 mg (entsprechend ca. 60 mg/kg) in zwei von drei Fällen, bei 50 mg (entsprechend ca. 285 mg/kg) war bei allen drei Tieren eine z. T. kräftige Erhöhung der QUICK-Werte gegenüber den Ausgangswerten feststellbar. Nach weiteren 24 h - also insgesamt nach 38 h - waren bei den mit 50 mg behandelten Ratten die Ausgangswerte praktisch wieder erreicht (s. Tabelle 2).

Ausgangs- wert	14 h	Differenz	38 h	Differenz
12,1 s	13,8 s	1,7 s	8,9 s	-3,2 s
8,3 s	19,2 s	10,9 s	10,5 s	2,2 s
10,9 s	24,0 s	13,1 s	11,3 s	0,4 s

Tab. 2: QUICK-Werte nach i.p. Gabe von 50 mg (ca. 285 mg/kg) **4a**

In einem weiteren Versuch wurden je 50 mg **4a** an drei Ratten mit der Schlundsonde gegeben.

Tabelle 3 zeigt, daß nach 14 h die Erhöhung der QUICK-Werte gegenüber dem Ausgangswert relativ gering ist - verglichen mit den 14 h-Werten bei intraperitonealer Gabe (vgl. Tabelle 2).

Ausgangs- wert	14 h	Differenz	38 h	Differenz
12,3 s	15,6 s	3,3 s	10,3 s	-2 s
9,2 s	13,3 s	4,1 s	11,5 s	2,3 s
8,5 s	12,8 s	4,3 s	8,7 s	0,2 s

Tab. 3: QUICK-Werte nach o. Gabe von 50 mg (ca. 285 mg/kg) **4a**

Dies legte die Vermutung nahe, daß nach 14 h das Wirkungsmaximum entweder bereits überschritten oder aber noch nicht erreicht war. In einem weiteren Versuch wurde daher bereits 7,5 h nach oraler Applikation von 50 mg (entsprechend ca. 285 mg/kg) **4a** pro Ratte die erste Blutentnahme vorgenommen. Tabelle 4 gibt die nach 7,5, 23,5, 47,5 h ermittelten QUICK-Werte wieder.

Ausg.- Wert	7,5 h	Differenz	23,5 h	Differenz	47,5 h	Differenz
9,7 s	34,9 s	25,2 s	31,9 s	22,2 s	11,2 s	1,5 s
11,9 s	27,0 s	15,1 s	24,6 s	12,7 s	8,4 s	-3,5 s
7,8 s	33,8 s	26,0 s	20,4 s	12,6 s	12,1 s	4,3 s

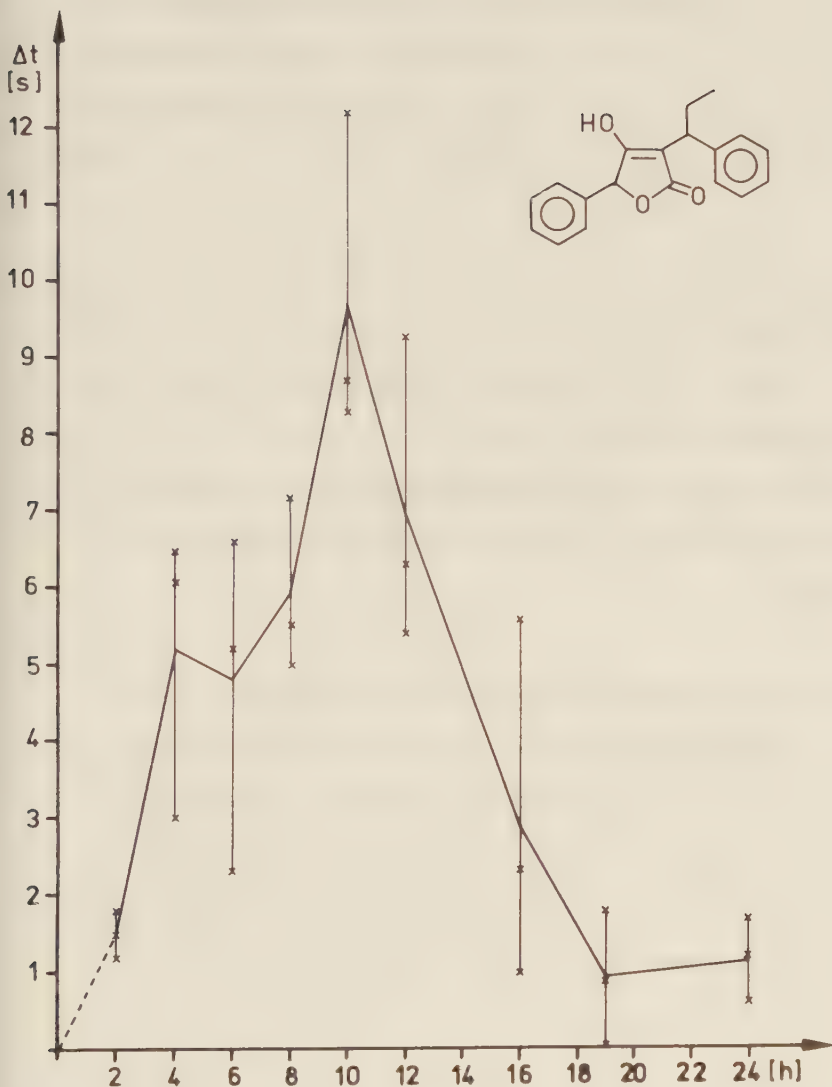
Tab. 4: QUICK-Werte nach o. Gabe von 50 mg (ca. 285 mg/kg) **4a**

Die verwendeten Ratten waren bereits einmal (zwei Wochen zuvor) mit **4a** behandelt worden, so daß sich die stark erhöhten Werte möglicherweise aus dieser Tatsache erklären lassen. Bei späteren Versuchen wurde daher stets frisches Tiermaterial verwendet.

Die Werte der Tabelle 4 deuten auf ein Maximum der Wirkung zwischen 7 und 24 h nach oraler Applikation hin. Daher wurde an einem größeren Rattenkollektiv der Zeitpunkt maximaler Wirkung festgestellt. 2, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 19, 24 h nach oraler Applikation von 50 mg (entsprechend ca. 285 mg/kg) **4a** pro Ratte wurde je drei Ratten Blut entnommen und der QUICK-Wert bestimmt. Die Differenz ($\ln[s]$) ist in Kurve I eingezeichnet; die Kreuzchen zeigen die Streubreite der Werte. Das Wirkungsmaximum von **4a** liegt demnach bei 10 h nach oraler Applikation. Nach 19 h ist der Ausgangswert nahezu wieder erreicht.

Eine gegenüber der Norm verlängerte TPZ bedeutet eine Verminderung der mit diesem Test erfaßten Gerinnungsfaktoren (vgl. Schema V). Verdünnt man also ein Normalplasma, so wird die TPZ des verdünnten Plasmas gegenüber der des Normalplasmas verlängert sein.

Die Plasmakonzentration der Gerinnungsfaktoren läßt sich in Prozent der Norm angeben, wenn man sich von einem Normalplasma eine Verdünnungsreihe herstellt, die zugehörigen QUICK-Werte bestimmt, aus beiden eine Bezugskurve erstellt und die TPZ des fraglichen Plasmas auf diese Kurve bezieht. Trägt man auf der Abszisse eines Koordinatensystems die QUICK-Werte der einzelnen Verdünnungen auf, auf der Ordinate die Reziprokwerte der zugehörigen Prozentwerte (Normalplasma = 100 %), so erhält man als Bezugskurve eine Gerade, mit deren Hilfe sich über die ermittelten QUICK-



KURVE 1: Erhöhung der QUICK-Werte nach o. Gabe von 50 mg (ca. 285 mg/kg)

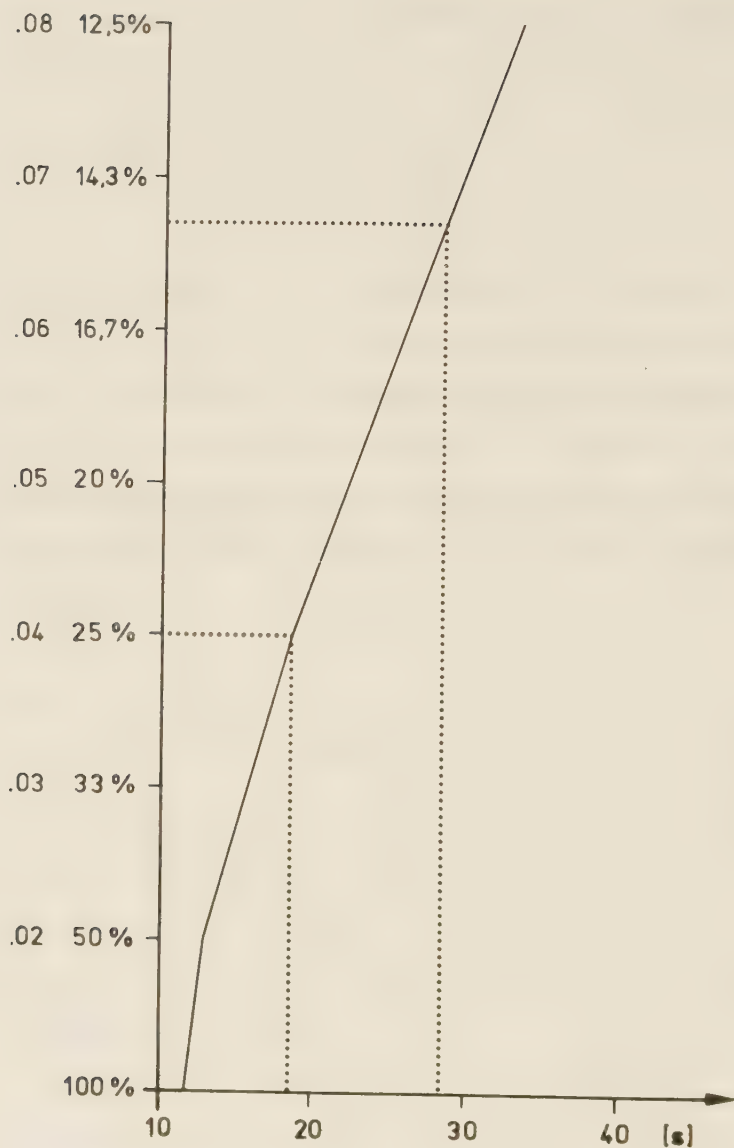
Zeiten der untersuchten Plasmen die zugehörigen Plasmakonzentrationen in Prozent der Norm leicht angeben lassen. In dieser Form wird im allgemeinen der Gerinnungsstatus eines unter Antikoagulansbehandlung stehenden Patienten bei Überprüfung mittels der TPZ angegeben.

Mit Hilfe des Plasmas von sechs unbehandelten Ratten wurde ebenfalls eine derartige Bezugskurve erstellt (s. Tabelle 5 und Kurve II). Die zu den einzelnen TPZ-Werten der Kurve I gehörenden Prozentwerte der Norm wurden über diese Bezugskurve ermittelt und gegen die Zeit aufgetragen (s. Kurve III). Man erhält so ein Bild der "Prothrombinkomplex-Aktivität" im Plasma der mit **4a** behandelten Ratten in Abhängigkeit von der Zeit nach Applikation der Substanz.

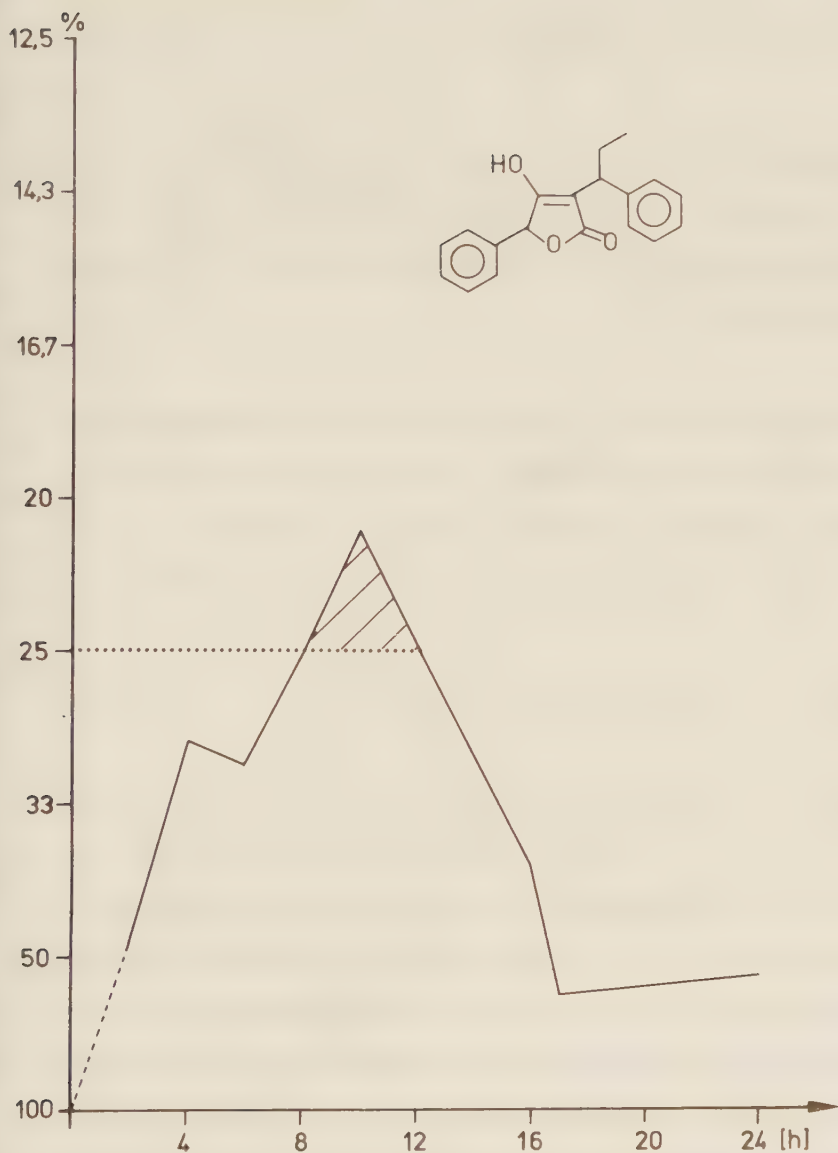
Der für eine Thromboseprophylaxe beim Menschen angestrebte Bereich liegt bei ca. 15-25 % der Norm. Der Bereich ist in Kurve II durch die punktierten Linien angedeutet. Der in diesen Bereich hineinragende Teil der Kurve II ist schraffiert dargestellt. Er wird nach 8 h erreicht und nach 12 h wieder verlassen. Mit dieser Feststellung soll jedoch keineswegs angedeutet werden, daß die Verhältnisse bei der Ratte ohne weiteres auf den Menschen übertragbar sind.

	100 %	50 %	25 %	12,5 %
Ratte I	12,1	13,5	19,0	33,0
Ratte II	11,7	13,1	18,9	34,9
Ratte III	11,5	12,5	18,2	33,4
Ratte IV	11,7	12,8	18,6	33,3
Ratte V	12,4	13,0	18,7	31,5
Ratte VI	11,3	12,6	18,0	31,5
Mittel	11,78	12,91	18,56	33,16

Tab. 5: Verdünnungsreihe von Normalplasmen mit zugehörigen QUICK-Werten.
Zahlenangaben in[s].



KURVE II: Bezugskurve zur Ermittlung der Prothrombinkomplex-Aktivität in Prozent der Norm.



KURVE III: Prothrombinkomplex-Aktivität im Plasma der Ratte nach o. Gabe von 50 mg (ca. 285 mg/kg) **4a**. Angabe in Prozent der Norm.

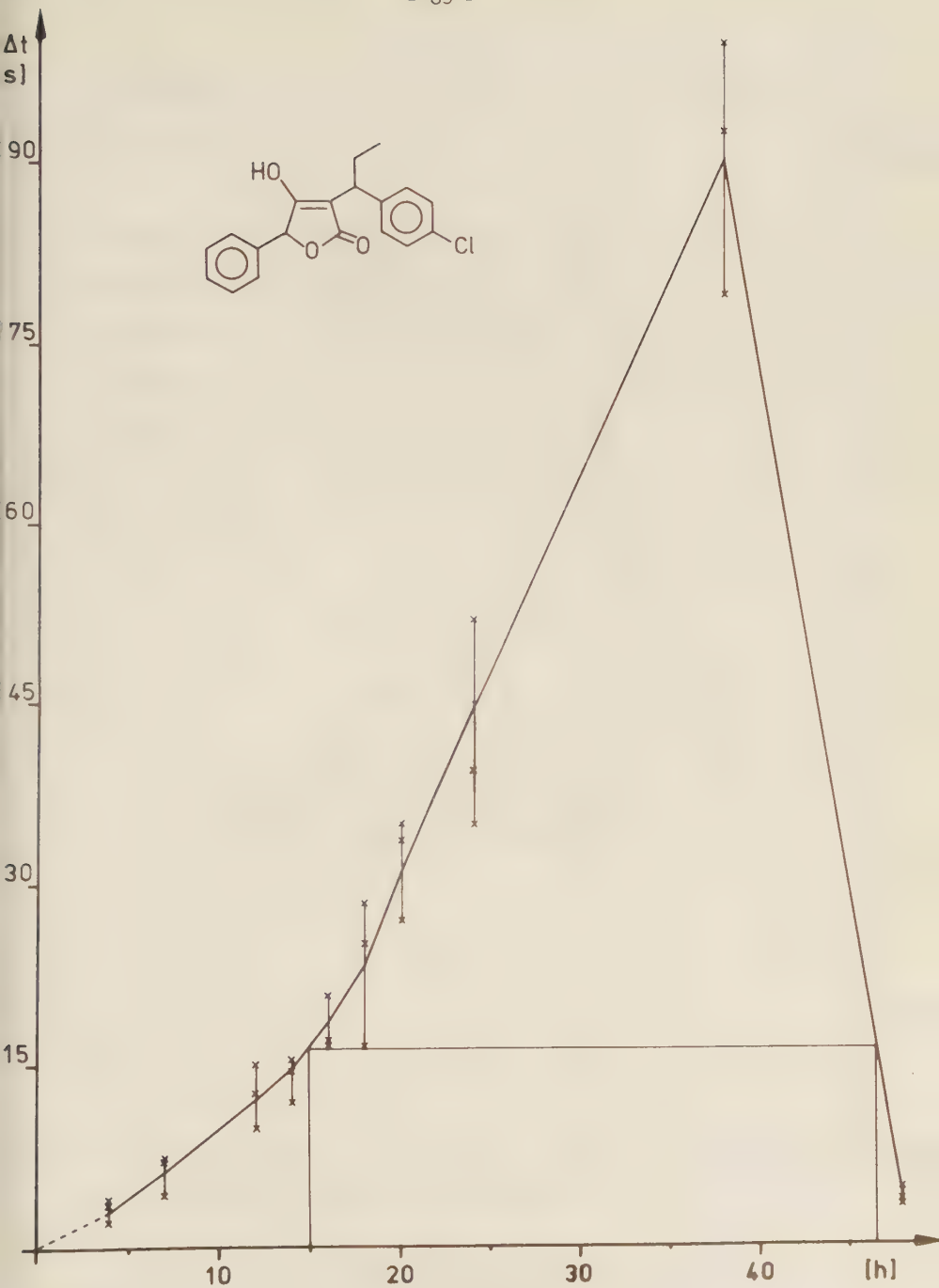
4.4 Testung von **51a** und **51b**

51a und **51b** wurden oral in einer Dosis von 60 mg (entsprechend ca. 340 mg/kg) pro Ratte verabreicht. Während sich **51a** wider Erwarten als wirkungslos erwies, führte **51b** bei den damit behandelten Ratten zu einer starken Erhöhung der QUICK-Werte.

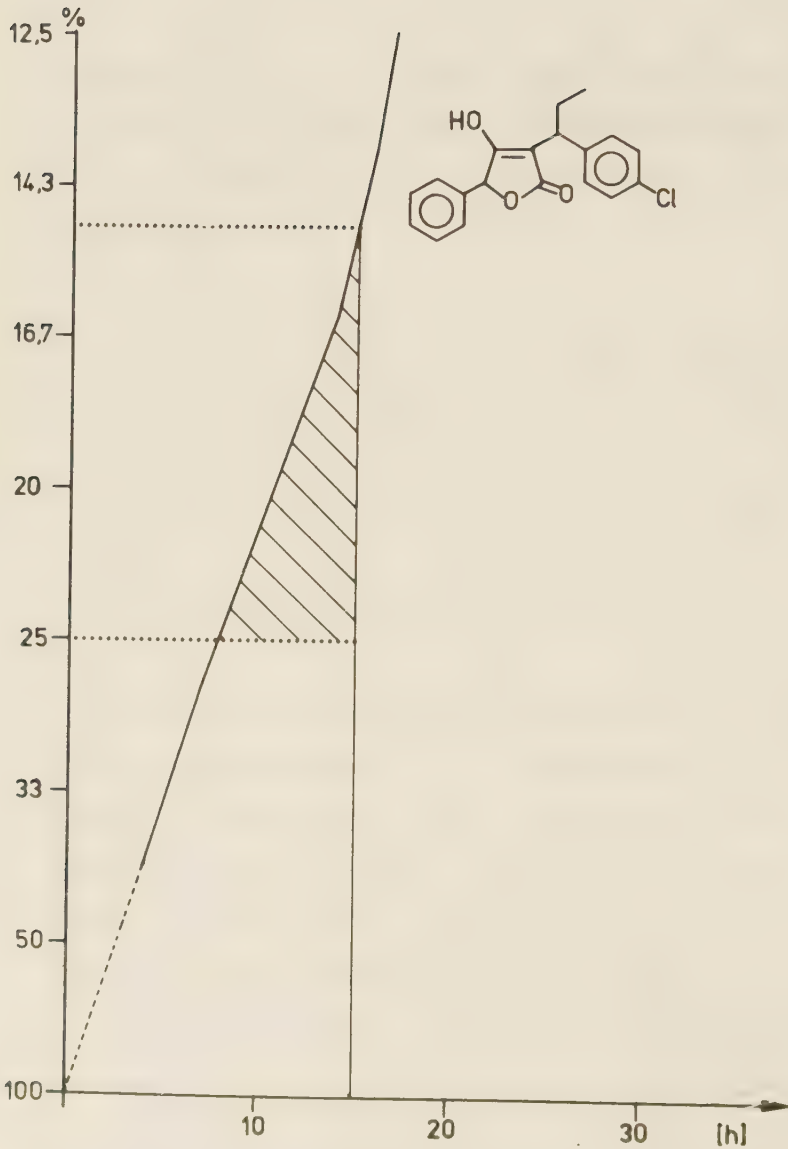
Um ein genaueres Bild von der Höhe der QUICK-Werte in Abhängigkeit von der Zeit nach Applikation von **51b** zu erhalten, wurde der Versuch mit einem größeren Rattenkollektiv wiederholt, so daß QUICK-Werte für 4, 7, 12, 14, 16, 18, 20, 24, 38, 48 h nach Applikation bestimmt werden konnten.

Kurve IV gibt die Entwicklung der QUICK-Werte während des Versuchs wieder.

In Kurve V sind die Werte der Kurve IV als Gehalt des Plasmas an Prothrombinkomplex-Aktivität in Prozent der Norm in Abhängigkeit von der Zeit nach Applikation von **51b** dargestellt. Aus Kurve V ist ersichtlich, daß nach 8 h der "therapeutische Bereich" erreicht wird, genauso wie bei **4a** (s. Kurve III). Während jedoch **4a** sein Wirkungsmaximum sehr bald danach erreicht und anschließend die Prothrombinkomplex-Aktivität des Plasmas wieder zunimmt, verringert sie sich bei **51b** sehr schnell weiter, so daß der "therapeutische Bereich" nach 15 h in Richtung Prothrombinkomplex-Aktivität "Null" verlassen wird. Nach 15 h hatten die mit **51b** behandelten Ratten eine QUICK-Wert-Er-



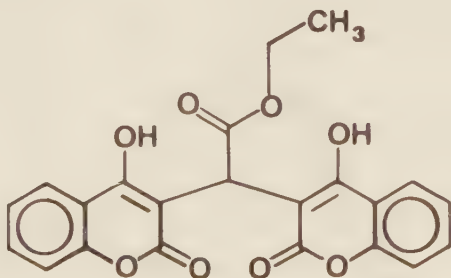
KURVE IV: QUICK-Wert-Erhöhung bei o. Gabe von 60 mg (ca. 340 mg/kg)



KURVE V: Prothrombinkomplex-Aktivität des Plasmas der Ratte nach o.
Gabe von 60 mg (ca. 340 mg/kg)

höhung von ca. 16,5 s; dieser Zustand wird erst nach gut 46 h nach Applikation wieder erreicht (s. Kurve IV).

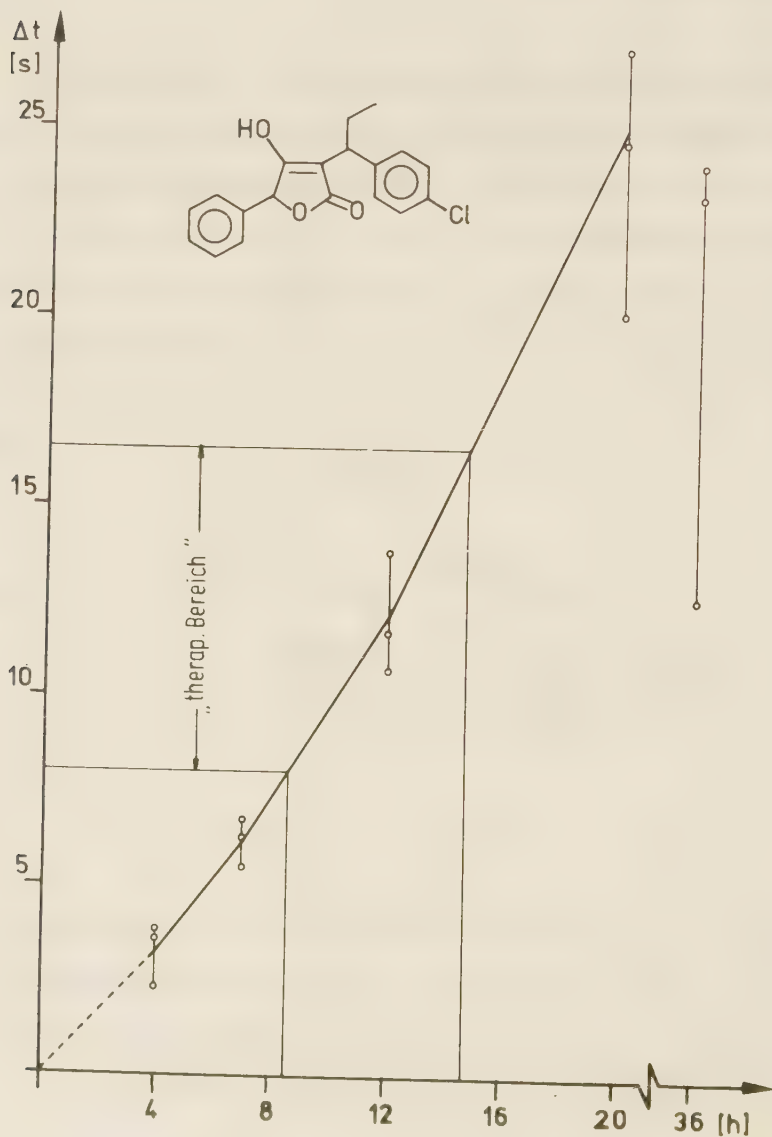
Angesichts dieser massiven Überdosierung von **51b** (auf die die Ratten, wie aus der stärkeren Streuung der Spitzenwerte zu ersehen ist, unterschiedlich reagierten) war eine Testung niedrigerer Dosen von **51b** geboten. In weiteren Versuchen wurde **51b** daher in einer Dosierung von 30 mg und 10 mg (entsprechend ca. 170 mg und 60 mg/kg) pro Ratte getestet. Zum Vergleich wurden drei Ratten auch mit je 10 mg (entsprechend ca. 60 mg/kg) Tromexan^R (**54**) behandelt.



54

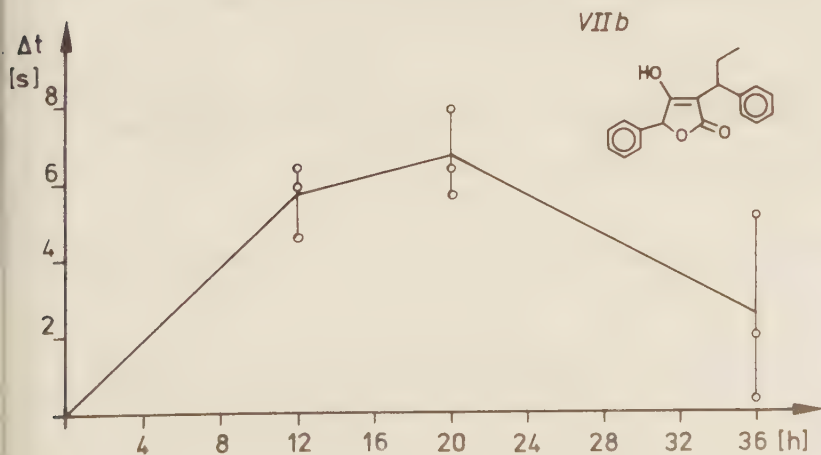
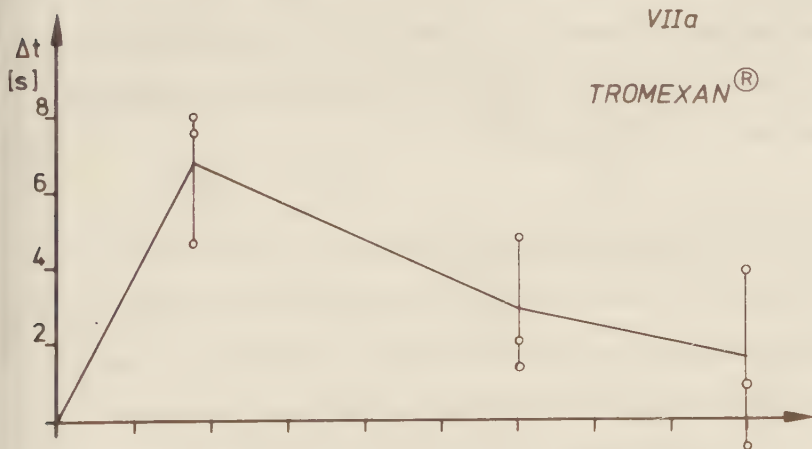
Die Entwicklung der QUICK-Werte ist in den Kurven VI - VII dargestellt. Bei einer Dosis von 30 mg (entsprechend ca. 170 mg/kg) wird der "therapeutische Bereich" noch erreicht und durchschritten: im wesentlichen verläuft die Kurve so wie bei einer Dosierung von 60 mg. Allerdings ist der 20 h-Wert schon

deutlich erniedrigt, und nach 36 h ist das Wirkungsmaximum offenbar bereits überschritten (vgl. Kurve VI).



KURVE VI: QUICK-Wert-Erhöhung nach o. Gabe von 30 mg (ca. 170 mg/kg)

Bei einer Dosis von 10 mg (ca. 60 mg/kg) verläuft die Kurve von **51b** wesentlich flacher, der "therapeutische Bereich" wird 20 h nach Applikation eben verfehlt. Die Wirkung ist in etwa vergleichbar mit der von 10 mg (ca. 60 mg/kg) Tromexan^R (vgl. Kurven VII a und VII b). Der Wirkungseintritt ist bei einer Dosis von 10 mg Tromexan^R pro Ratte also steiler, der Wirkungsabfall ist, wie aus dem 36 h-Wert zu ersehen ist, dann allerdings auch rapider als bei der gleichen Dosis von **51b**.



KURVE VII a und VII b: Vergleich von **51b** und Tromexan^R

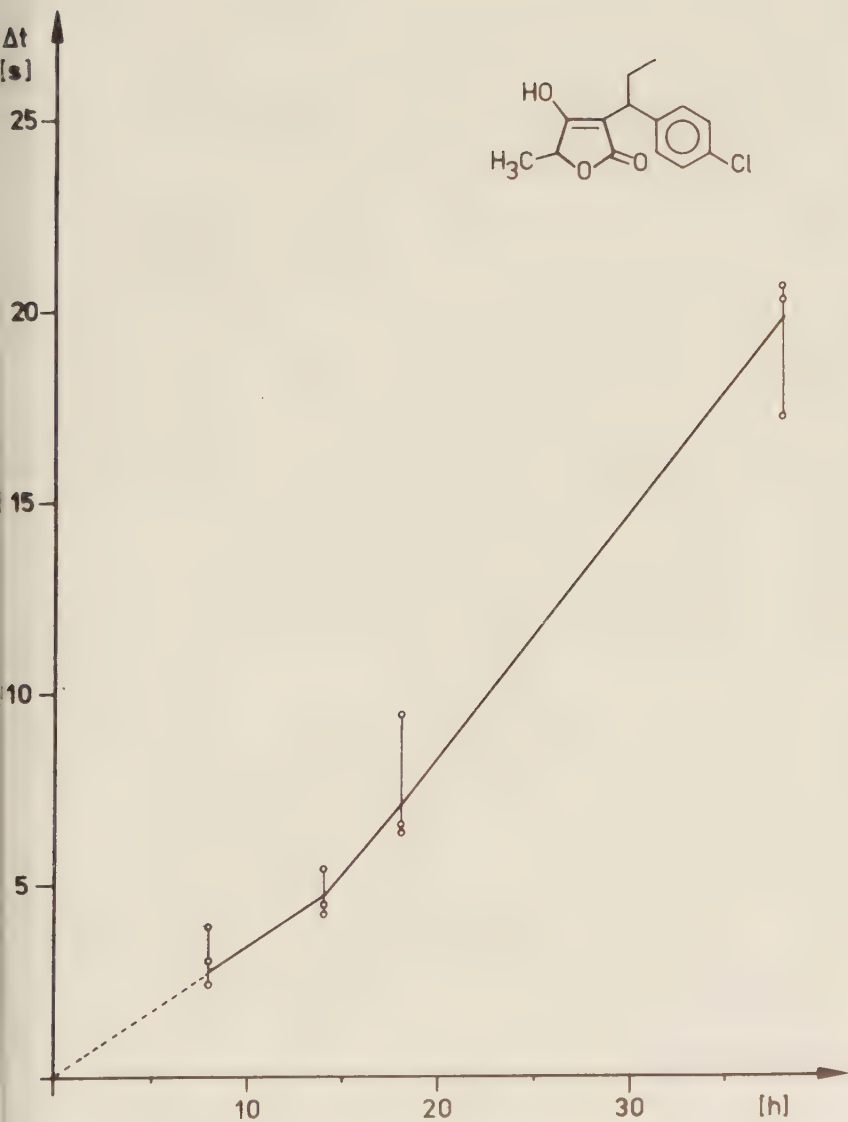
4.5 Testung von **51c-f** und **11c**

In einer Dosis von 60 mg pro Ratte (ca. 340 mg/kg) führten **51c**, **51e**, **51f** und **11c** zu keiner Erhöhung der QUICK-Werte.

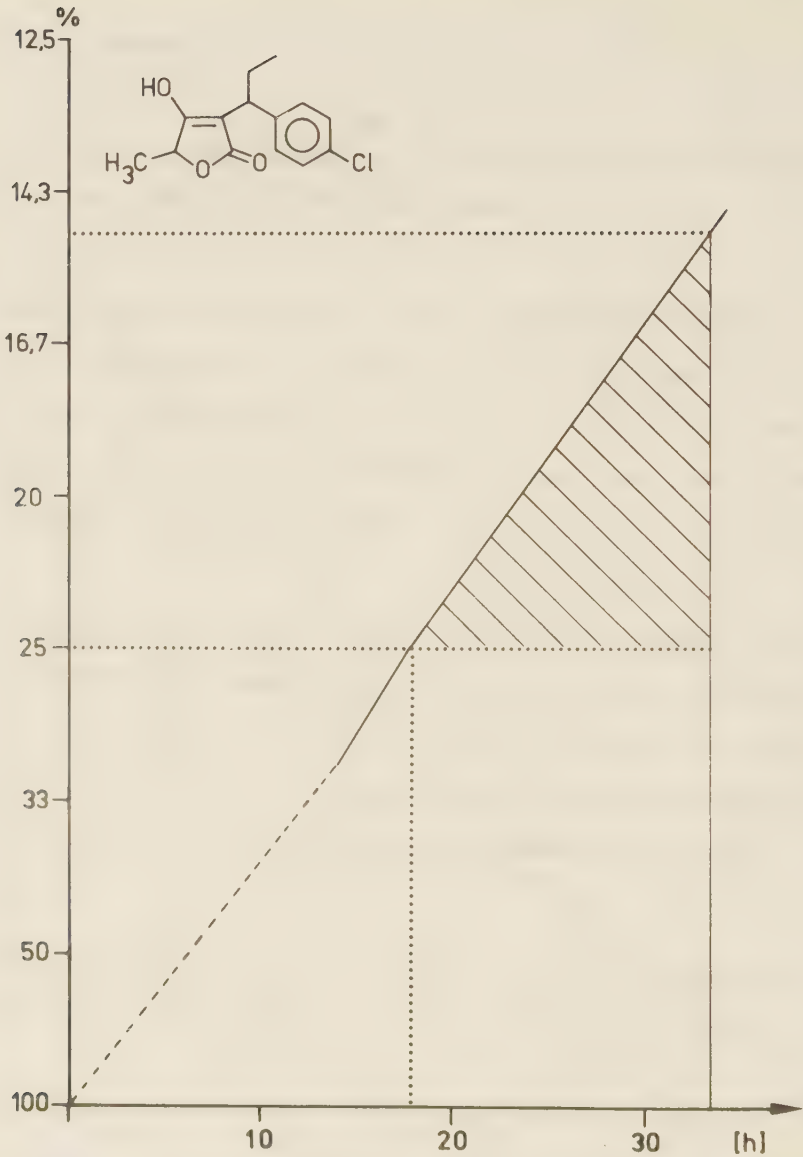
51d dagegen erwies sich als wirksam. Kurve VIII gibt die Erhöhung der QUICK-Werte nach 8, 14, 18 und 38 h wieder. Werte für längere Zeiten konnten nicht ermittelt werden, da das Rattenkollektiv nach der 38 h-Herzpunktion einging. Die Wirkung von **51d** setzt offensichtlich bei weitem nicht so massiv ein wie bei **4a** oder **51b**.

Noch deutlicher wird dies bei Betrachtung der Kurve IX, die wiederum die QUICK-Werte als Prozent der Norm der Plasmaprothrombinkomplex-Aktivität, aufgetragen gegen die Zeit nach Applikation, wiedergibt. Der "therapeutische Bereich" wird mit 18 h wesentlich später erreicht und erst nach rund 33 h in Richtung Prothrombinkomplex-Aktivität "Null" verlassen.

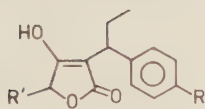
Abbildung X vereinigt die Kurven I, IV, VI, VIII, so daß die Unterschiede in der Wirkung klar erkennbar werden.



KURVE VIII: QUICK-Wert-Erhöhung nach Gabe von 60 mg (ca. 340 mg/kg)



KURVE IX: Prothrombinkomplex-Aktivität des Plasmas der Ratte nach o.
Gabe von 60 mg (ca. 340 mg/kg)



4a: R = H, R' =

51b: R = Cl, R' =

51d: R = Cl, R' = CH₃

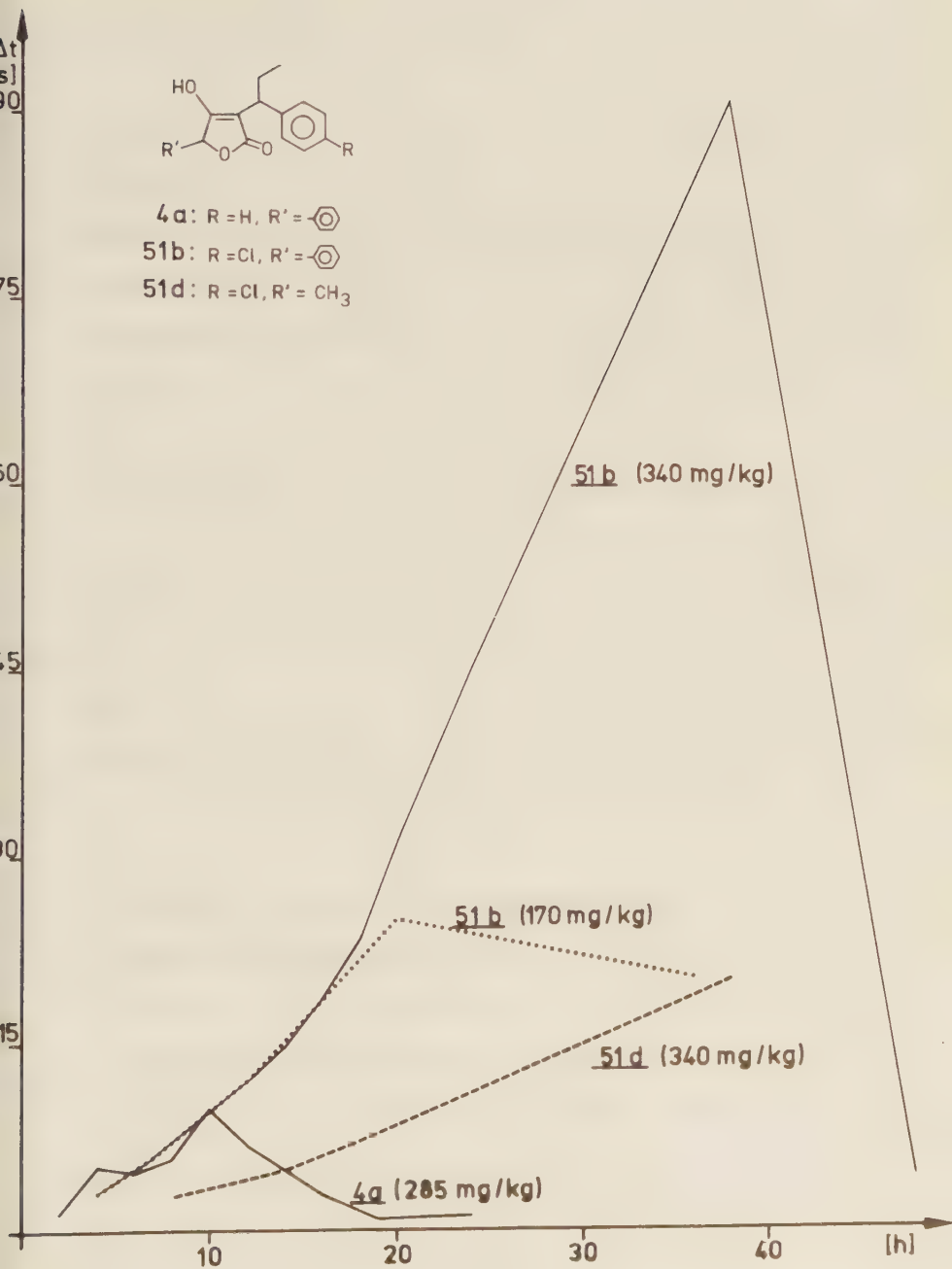


Abb. X: Zusammenstellung der Kurven I, IV, VI, VIII

4.6 Bestimmung der partiellen Thromboplastinzeit (PTT)

4.6.1 Allgemeines

Während man mit der TPZ-Bestimmung den Zustand des exogenen Gerinnungssystems beurteilen kann (s. Schema III und V), erfaßt man mit der Bestimmung der PTT alle Faktoren des endogenen Systems, mit Ausnahme des Plättchenfaktors 3, der zugesetzt wird.

Das PTT-Reagenz enthält in der Regel neben einer standardisierten Menge PF 3 eine plasmaaktivierende Substanz, z. B. Kaolin oder Ellagsäure. Beim Zusammenbringen des PTT-Reagenzes mit Citratplasma kommt es zur Aktivierung von Faktor XII, wodurch der Gerinnungsablauf im endogenen System angestoßen ist (vgl. Schema V). Nach Ablauf der vom Hersteller des PTT-Reagenzes angegebenen Aktivierungszeit wird dann der Ansatz recalcifiziert (Zugabe von CaCl_2) und die Zeit bis zum Gerinnungseintritt gemessen.

TPZ und PTT überschneiden sich teilweise, so daß man bei verlängerter TPZ mit Hilfe der PTT feststellen kann, ob die Verlängerung durch einen Mangel an Faktor III und/oder VII oder (auch) durch Mangel an anderen, mit beiden Methoden erfaßten Faktoren bedingt ist. Andererseits läßt sich mit Hilfe der PTT feststellen, ob eine Substanz spezifisch die Faktoren XII, XI, IX, VIII erfaßt.

4.6.2 Methodik der PTT-Bestimmung

Zur Testung wurde das PTT-Reagenz der Fa. Merz & Dade GmbH (= aktiviertes Cephaloplastin^R) verwendet, das aus Kaninchenhirnextrakt hergestellt wird und "einen hochwirksamen, flüssigen Vorstufenaktivator" enthält, "der die Verwendung von Kaolin oder ähnlichen oberflächenaktiven Substanzen überflüssig macht" (Angabe auf der Gebrauchsanleitung). Aktiviertes Cephaloplastin^R ist ein standardisiertes, flüssiges Phospholipoid mit einem Plasmaaktivator. Daher ist die Verwendung des Reagenzes im Gegensatz zu kaolin-geprübten Suspensionen im CU 500 möglich.

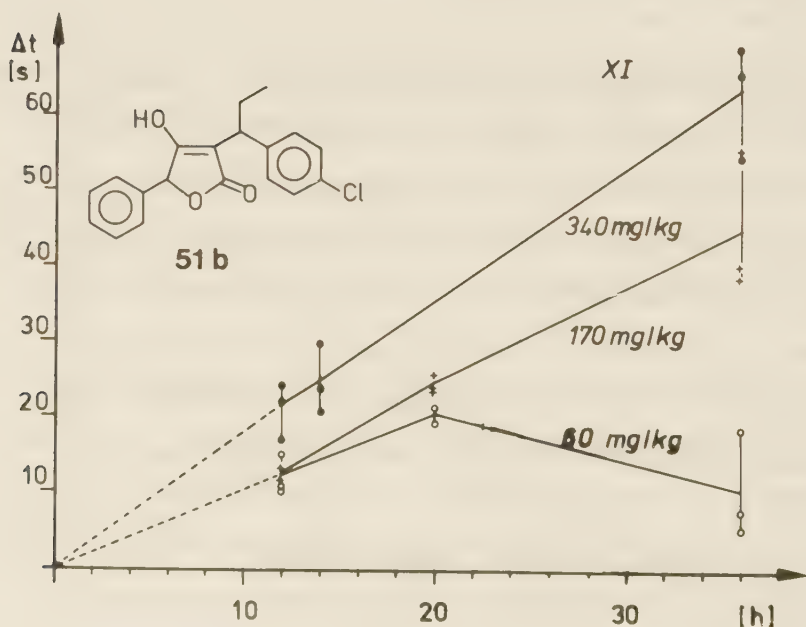
Der technische Ablauf des Testes ist ähnlich wie der für den QUICK-Test beschriebene. 0,1 ml bei 37°C inkubiertes Cephaloplastin^R und 0,1 ml Citratplasma werden in die Küvette des Koagulometers gegeben, gut vermischt, 20 Minuten lang inkubiert (bei der von der Fa. Dade vorgeschriebenen Inkubationszeit von 3 Minuten konnten keine reproduzierbaren Werte erhalten werden) und dann mit 0,1 ml 0,025 M CaCl₂-Lösung versetzt. Der "Normalwert" für unbehandelte Ratten wurde mit 27,1 s (Mittelwert aus 56 Bestimmungen) ermittelt, wobei Einzelwerte bis zu 4 s nach oben und nach unten abwichen.

4.6.3 PTT-Bestimmung für **51a-f** , **53a,b**, Tromexan^R

Keine der im QUICK-Test unwirksamen Substanzen führte bei gleicher Do-

sierung zu einer Erhöhung der PTT-Werte. Dagegen bewirkten die im QUICK-Test wirksamen Substanzen auch im PTT-Test eine Verlängerung der Gerinnungszeit. Allerdings lagen die für die einzelnen Ratten eines Kollektivs ermittelten PTT-Werte z. T. wesentlich weiter auseinander als die QUICK-Werte, was apparativ bedingt sein könnte.

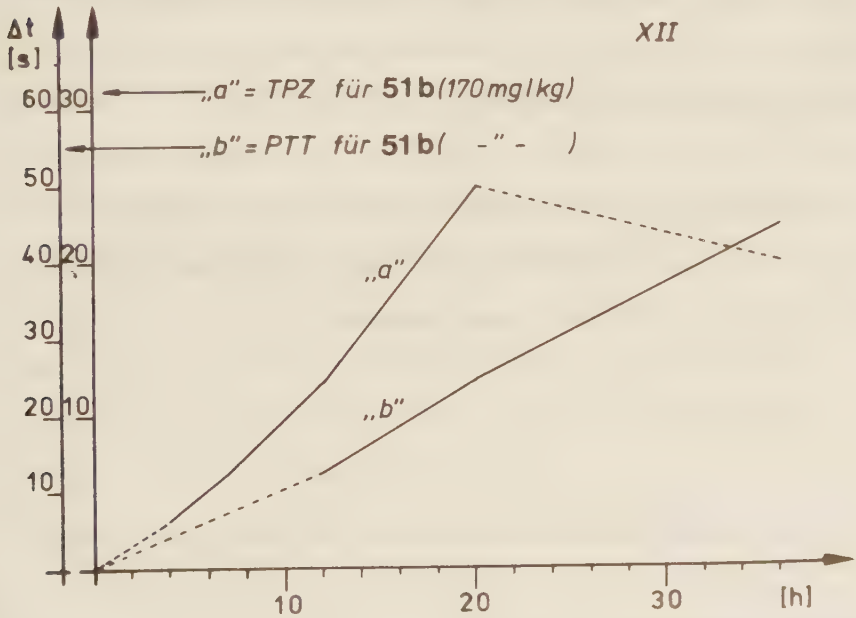
Im wesentlichen entspricht die Entwicklung der PTT-Werte der Tendenz nach derjenigen der QUICK-Werte. Als Beispiel seien die Testergebnisse für **51b** dargestellt (s. Kurve XI).



KURVE XI: Erhöhung der PTT-Werte nach o. Gabe von **51b** in verschiedenen Dosierungen

Bemerkenswert ist lediglich, daß diese Entwicklung der PTT-Werte gegenüber der der QUICK-Werte - zumindest bei einer Dosierung von 30 mg (ca. 170 mg/kg) pro Ratte erkennbar - mit einer gewissen "Verzögerung" verläuft (vgl. Kurve XII). Der Grund dafür dürfte in der unterschiedlichen plasmatischen Halbwertszeit der einzelnen Gerinnungsfaktoren zu suchen sein. Während der im QUICK-Test erfaßte Faktor VII, wie bereits erwähnt, eine recht kurze plasmatische Halbwertszeit besitzt, hat z. B. der zum endogenen System gehörende und bei der PTT-Bestimmung erfaßte Faktor IX eine etwa sechsmal längere plasmatische Halbwertszeit.

Die als wirksam erkannten Substanzen vermindern also die Konzentration von Plasmafaktoren des exogenen und des endogenen Systems.



KURVE XII: Entwicklung der TPZ- und der PTT-Werte nach Gabe von **51b**

4.7 Bestimmung der Thrombinzeit

4.7.1 Allgemeines

Die Bestimmung der Thrombinzeit (auch "Plasma-Thrombinzeit", s. Schema V) dient einmal zur Feststellung verminderter Fibrinogen-Konzentrationen im Plasma. Bei normaler Fibrinogen-Konzentration im Plasma dient sie aber auch zur Feststellung eines erhöhten Antithrombin-Titers im Plasma und kann daher als Maß für die heparinartige Wirkung einer Substanz benutzt werden.

Heparin wirkt nur in Verbindung mit einem plasmatischen Cofaktor, dem Antithrombin, gerinnungshemmend, und zwar einmal durch Begünstigung der Adsorption von Thrombin durch Fibrin und zum anderen durch Beschleunigung der Bindung von Thrombin mit Antithrombin ¹⁰¹⁾.

Um festzustellen, ob eine der wirksamen Substanzen eine solche heparinartige Wirkung besitzt, wurde daher mit dem Plasma entsprechend behandelte Ratten eine Thrombinzeitbestimmung durchgeführt.

4.7.2 Methodik

Als Reagenz fand Test-Thrombin der Behringwerke AG (Marburg) Verwendung.

101) Vgl. loc. cit. 98), S. 24 f.

Der Inhalt eines Fläschchens Test-Thrombin, entsprechend 60 NIH-Einheiten, wird in 1 ml Wasser gelöst und bildet die Stammlösung, die längere Zeit ohne Aktivitätsverlust haltbar ist und von der die benötigte Menge unmittelbar vor Beginn der Bestimmung 1:10 mit dest. Wasser verdünnt wird (entsprechend 6 NIH-Einheiten/ml).

0,1 ml Citratplasma werden in der Küvette mit der gleichen Menge Wasser versetzt, 20 bis 30 s bei 37°C inkubiert, die Küvette in den Strahlengang des Koagulometers gebracht und nach Zugabe von 0,1 ml Test-Thrombin-Verdünnung die Gerinnungszeit bestimmt.

4.7.3 Thrombinzeitbestimmung für **51b**, **51d** und Tromexan^R

Von **51d** wurden 60 mg (ca. 340 mg/kg) pro Ratte, von **51b** 30 mg (ca. 170 mg/kg) und 10 mg (ca. 60 mg/kg) pro Ratte und von Tromexan^R 10 mg (ca. 60 mg/kg) pro Ratte oral verabreicht. Die Blutentnahme erfolgte 8, 20, 32, 44 h bzw. 12, 24, 36 h (bei 30 mg-Dosis von **51b**) nach Applikation.

Gegenüber dem mit ca. 40 s. ermittelten "Normalwert" von Rattenplasma (Schwankungsbreite $\pm$ 10 s!) konnte bei den behandelten Ratten keine Verlängerung der Thrombinzeit festgestellt werden.

4.8 Diskussion der gerinnungsphysiologischen Prüfung

Aus den Tierversuchen lassen sich einige wesentliche Erkenntnisse ableiten:

- (a) Für einen gerinnungshemmenden Effekt ist eine von LINK et al. (loc. cit.) geforderte Benzokondensation nicht erforderlich.
- (b) Zur Herbeiführung eines gerinnungshemmenden Effekts in der Tetronsäurereihe muß in 5-Stellung des Tetronsäuregerüsts ein Substituent vorhanden sein.
- (c) Dieser Substituent braucht jedoch nicht Phenyl zu sein.
- (d) Zur Herbeiführung eines gerinnungshemmenden Effekts in der Tetronsäurereihe muß auch in 3-Stellung des Tetronsäuregerüsts ein Substituent vorhanden sein.
- (e) Von entscheidendem Einfluß auf die Wirkung scheint eine Substitution der Aromaten durch Chlor zu sein, einen Substituenten mit negativem I-Effekt. Während die Einführung dieses Substituenten einerseits zu einer erheblichen Verstärkung der Wirkung führt (Verbindung **51b**), andererseits aber zu einem Verlust der Wirkung führt (Verbindung **51a**), wird eine dritte Verbindung (**51c**) dadurch

überhaupt erst wirksam (Verbindung **51d**).

Inwieweit hierbei pharmakodynamische und/oder pharmakokinetische Parameter ausschlaggebend sind, läßt sich nicht beurteilen, da bei oraler Applikation der Substanzen nur die Summe beider Parameter gemessen wird. Es ist also nicht geklärt, inwieweit Resorptionsvorgänge, Bindung an Plasmaeiweiß, Bedingungen am Wirkort etc. z. B. die Wirkungssteigerung von **51b** gegenüber **4a** entscheidend beeinflussen.

(f) Die im Tierversuch als wirksam erkannten Substanzen beeinflussen sowohl die zum exogenen als auch die zum endogenen System gehörenden Plasmafaktoren.

(g) Den Substanzen kommt nach den angestellten Versuchen keine heparinähnliche Wirkung zu.

(h) Mit **51b** wurde eine Substanz gefunden, die bei gleicher Dosierung und oraler Applikation bei der Ratte eine dem Tromexan^R vergleichbare Verlängerung der QUICK-Werte bewirkt.

(i) Dem 3,3'-Methylenbis-(4-hydroxycumarin) und dem 3,3'-Äthylidenbis-(4-hydroxycumarin) analoge Bisprodukte (**53a,b**) erwiesen sich als wirkungslos.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird über Tetronsäurederivate und ihre Wirkung auf das Blutgerinnungssystem berichtet. Für 3,5-disubstituierte Tetronsäuren wurde eine neue, leicht durchzuführende Synthese gefunden, mit der bisher nicht beschriebene 3-Alkyl-5-aryltetronsäuren hergestellt werden konnten.

Die spektroskopischen Eigenschaften dieser neuen Tetronsäurederivate sowie ihr Abbau im Massenspektrometer werden beschrieben. Es konnte gezeigt werden, daß eine Reihe von in der Literatur beschriebenen massenspektrometrischen Abbauwegen für diese Derivate sowie für die ihnen entsprechenden 5-Methyl- und in 5-Stellung unsubstituierten Tetronsäurederivate **51c-f** nicht zutrifft. Dagegen decken sich wesentliche Fragmentierungsschritte der Bis-Verbindungen **53a** und **53b** mit den in der Literatur beschriebenen.

Die synthetisierten Tetronsäurederivate wurden im Tierversuch an Ratten auf ihre blutgerinnungshemmende Wirkung untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß mit Tetronsäuren bestimmter Substitution eine neue Substanzklasse mit antikoagulativer Wirkung gefunden werden konnte.

Es zeigte sich, daß zur Erzielung einer starken blutgerinnungshemmenden Wirkung nach oraler Applikation entgegen bisher vertretener Ansicht eine Benzokondensation im Molekül der Wirksubstanz, wie sie bei den 4-Hydroxy-

cumarinen und den 1,3-Indandionen vorliegt, nicht essentiell ist. Es konnte ferner gezeigt werden, daß

- (a) für eine blutgerinnungshemmende Wirkung die 5-Stellung des Tetronsäuregerüsts substituiert sein muß, wobei jedoch nicht Phenylsubstitution vorzuliegen braucht;
- (b) für eine blutgerinnungshemmende Wirkung auch die 3-Stellung des Tetronsäuregerüsts substituiert sein muß;
- (c) dem Dicumarol (**52a**) analoge Verbindungen der Tetronsäurereihe (**53a,b**) nach oraler Applikation zu keiner Verlängerung der Gerinnungszeiten führen;
- (d) Chlorsubstitution in den Aromaten der Tetronsäuresubstituenten von entscheidendem Einfluß auf die Antikoagulanswirkung ist.

Der zeitliche Verlauf der Wirkung der Substanzen mit Antikoagulanswirkung wurde untersucht. Es zeigte sich, daß die Substituenten des Tetronsäuregerüsts nicht nur das Ausmaß der Wirkung, sondern auch den zeitlichen Verlauf derselben deutlich beeinflussen. Während beispielsweise nach oraler Applikation von **51b** ein sehr rascher Wirkungsanstieg zu verzeichnen ist, verläuft der Anstieg bei einer vergleichbaren Dosis von **51d** viel langsamer.

Die wirksamen Substanzen beeinflussen sowohl das endogene als auch das exogene System der plasmatischen Blutgerinnung.

Mit **51b** wurde eine Substanz gefunden, die bei der Ratte - bei gleicher Dosierung - eine Verlängerung der Gerinnungszeit bewirkt, die der durch ein handelsübliches Präparat (Tromexan^R) hervorgerufenen vergleichbar ist.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Angaben

Schmelzpunkte: Die Schmelzpunkte wurden mit einem LINSTROM-Gerät bestimmt und sind unkorrigiert.

UV-Spektren: Die Elektronenspektren wurden mit einem BECKMANN DB-G Spektralphotometer aufgenommen.

IR-Spektren: Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte im PERKIN-ELMER Spektralphotometer 421 in dem angegebenen Lösungs- bzw. Einbettungsmittel.

¹H-NMR-Spektren: Die ¹H-NMR-Spektren wurden mit einem A 60 A Gerät der Fa. VARIAN unter Verwendung der angegebenen Lösungsmittel und von TMS als innerer Standard aufgenommen. Die chemische Verschiebung ist in ppm nach der δ -Skala angegeben.

Massenspektren: Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte im Massenspektrometer CH 7 Varian Mat, die Ionisationsspannung betrug 70 eV. Für die Hochauflösung diente ein CH 5 D Varian Mat Gerät ^{*)}, ^{**)} .

^{*)} Herrn Dr. Holzmänn im Institut für Organische Chemie der FU Berlin danke ich für die Aufnahme und Diskussion des hochaufgelösten Massenspektrums.

^{**)} Herrn J. Lindemann im Pharmazeutischen Institut der FU Berlin danke ich für wertvolle Hilfe bei der Interpretation des hochaufgelösten Massenspektrums

Elementaranalysen: Die Elementaranalysen wurden in der analytischen Abteilung des Pharmazeutischen Instituts der FU Berlin durchgeführt.

Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Acylalkylmalonester 46

0,2 Mol NaNH_2 werden in 100 ml wasserfreiem Benzol suspendiert und unter kräftigem Rühren tropfenweise mit 0,2 Mol **44** versetzt, wobei der Ansatz mit dem Wasserbad allmählich auf 50°C erwärmt wird. Nach erfolgter Zugabe von **44** wird noch etwa 4 h bei 50°C weitergerührt, bis sich nahezu alles NaNH_2 umgesetzt hat (praktisch keine NH_3 -Entwicklung mehr).

Der Ansatz wird nun (zwecks Entfernung gelösten Ammoniaks) am Rotavapor bis fast zur Trockne eingeengt und erneut in 150 ml wasserfreiem Benzol aufgenommen. Die Lösung wird von außen mit Eis gekühlt und unter Rühren tropfenweise mit 0,2 Mol des benötigten Säurechlorids versetzt. Nach beendeter Zugabe wird das Eisbad entfernt und der Ansatz über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt.

Die entstandene Gallerte (die Reaktion sollte annähernd neutral sein) wird mit Eiswasser geschüttelt, die wäßrige Schicht im Scheidetrichter abgetrennt und ggf. einmal mit wenig Benzol gegengewaschen. Die vereinigten Benzolphasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotavapor eingeengt. Das zähflüssige, gelbe Öl wird ohne weitere Reinigung eingesetzt (vgl. S. 26).

Allgemeine Vorschrift zur Zyklisierung der Acylalkylmalonester **46** zu
3,5-disubstituierten Tetronsäuren **50**

0,1 Mol **46**, in wenig wasserfreiem Benzol gelöst, werden bei Raumtemperatur zu einer kräftig gerührten Suspension von ca. 0,5 Mol feingepulvertem Natriummethylat in 100 ml wasserfreiem Benzol getropft, wobei es zur Verfärbung (gelborange) und Erwärmung des Reaktionsgemisches und allmählich zur Auflösung der Suspension kommt. Unter Rühren wird der Ansatz nun 36 h auf einer Temperatur von 45–50°C gehalten. Dabei kommt es wieder zur Verdickung des Ansatzes.

Der nach dem Abkühlen entstandene dicke Brei wird mit Eiswasser versetzt und geschüttelt, die wäßrige, stark alkalisch reagierende Schicht abgetrennt und die Benzolschicht nochmals mit Wasser extrahiert. Die vereinigten wäßrigen Auszüge werden zweimal mit wenig Äther gewaschen und dann portionsweise zügig in eine Mischung aus konz. Salzsäure und zerstoßenem Eis eingerührt. Der entstehende flockige, z. T. zähklebrige Niederschlag wird sofort nach dem Einrühren der jeweiligen Portion mit Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherextrakte werden mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und i. Vak. eingengt.

Das anfallende orangefarbene Öl wird in wenig Äther gelöst und mit Petroläther (Sdp. 40–60°C) bis zur starken Trübung versetzt. Die vom sich abset-

zenden, mißfarbenen, zähklebrigen Öl dekantierte Lösung wird bis zur erneuten starken Trübung mit Petroläther versetzt und in den Kühlschrank gestellt; über Nacht entstehen neben weiterem mißfarbenem Öl farblose Kristallbüschel. Aus dem Öl läßt sich durch mehrmaliges Wiederholen der angegebenen Prozedur weiteres Produkt gewinnen. Das Rohprodukt wird aus Äthanol/Wasser, Methanol/Wasser oder Dioxan/Wasser umkristallisiert oder durch Umfällen aus Äther mittels Petroläther gereinigt.

Nach dieser Vorschrift wurden hergestellt:

(a) 5-Phenyl-3-(1-phenylpropyl)-tetronsäure (4a)

Ausbeute: 35 % d. Th.

Farblose Nadelchen, Schmp. $139-141^{\circ}\text{C}$ (Äthanol/Wasser)

$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3$ (294,4)

Mol.-Masse: 294 (massenspekt.)

Ber. C 77,53 H 6,16

Gef. C 77,26 H 6,20

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 38 ff.

^1H -NMR: s. Theor. Teil, S. 29 ff.

UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 206, 235, 259$

IR (KBr): cm^{-1} 3300-2790, 3085, 3063, 3030, 2960, 2930, 2870, 2730-2380, 1950, 1885, 1800, 1705, 1615 (br.), 1487, 1447, 1387, 1375, 1345, 1313, 1295, 1280, 1240, 1190, 1100, 1055, 1040, 1027, 1005, 915, 897, 837, 820, 780, 753, 695

(b) 5-(4-Chlorphenyl)-3-(1-phenylpropyl)-tetronsäure (51a)

Ausbeute: 37 % d. Th.

Farblose Nadelchen, Schmp. 168-169°C (Äther/Petroläther)

$C_{19}H_{17}ClO_3$ (328,8)

Mol.-Masse: 328/330 (massenspektr.)

Ber. C 69,41 H 5,21

Gef. C 69,16 H 5,31

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 38 ff.

1H -NMR: s. Theor. Teil, S. 55

IR (KBr): cm^{-1} 3250-2780, 3020 (br.), 2960, 2925, 2865, 2695-2380, 1695, 1605 (br.), 1480, 1440, 1375, 1295 (br.), 1230, 1180, 1080, 1035, 1000, 800, 780, 745, 690

(c) 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-phenyltetronsäure (51b)

Ausbeute: 55 % d. Th.

Farblose Nadelchen, Schmp. 152-153°C (Äthanol/Wasser)

$C_{19}H_{17}ClO_3$ (328,8)

Mol.-Masse: 328/330 (massenspektr.)

Ber. C 69,41 H 5,21

Gef. C 68,97 H 5,26

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 38 ff.

1H -NMR: s. Theor. Teil, S. 55

IR (KBr): cm^{-1} 3200-3000, 2955, 2925, 2865, 2690-2380, 1710, 1595 (br.), 1480, 1440, 1375, 1245, 1170, 1080, 1030, 1000, 925-850, 810, 765 (br.), 715, 685

(d) 5-Methyl-3-(1-phenylpropyl)-tetronsäure (51c)

Ausbeute: 66 % d. Th.

Farblose Nadelchen, Schmp. 113-114°C (Äther/Petroläther)

$C_{14}H_{16}O_3$ (232,3)

Mol.-Masse: 232 (massenspektr.)

Ber. C 72,39 H 6,94

Gef. C 71,84 H 6,94

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 56 ff.

1H -NMR: s. Theor. Teil, S. 55

IR (KBr): cm^{-1} 3400-2800, 3050, 3020, 2960, 2925, 2870, 2770-2360, 2360-2200, 1690, 1675-1490, 1480, 1440, 1385, 1340, 1310, 1265, 1235, 1195, 1095, 1065, 1035, 945, 925, 890, 805, 775, 745, 725, 690

(e) 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-methyltetronsäure (51d)

Ausbeute: 59 % d. Th.

Farblose Nadelchen, Schmp. 139-141°C (Äther/Petroläther)

$C_{14}H_{15}ClO_3$ (266,7)

Mol.-Masse: 266/268 (massenspektr.)

Ber. C 63,04 H 5,66

Gef. C 63,02 H 5,65

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 56 ff.

1H -NMR: s. Theor. Teil, S. 55

IR (KBr): cm^{-1} 3400-2780, 2965, 2925, 2865, 2780-2380, 2360-2080, 1695, 1675-1490, 1475, 1435, 1380, 1315, 1255, 1185 (br.), 1105, 1075, 1060, 1040, 1005, 945, 815, 800, 775, 740, 710, 680

3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-5-methyltetronsäure (51d) aus 60

Die Bromierung von **60** erfolgte in Chloroformlösung analog der Vorschrift von REICHERT und SCHÄFER¹⁰²⁾. Abweichend von der Vorschrift wurde dann die Lösung über Nacht zwecks vollständiger Umlagerung zum 4-Bromderivat in den Kühlschrank gestellt¹⁷⁾ und am nächsten Tag 1 h lang Luft durch die Lösung gesaugt¹⁰³⁾, anschließend wurde am Rotavapor eingengt. Die Zyklisierung erfolgte wie bei REICHERT und SCHÄFER (loc. cit.) beschrieben, jedoch durch insgesamt 6 h langes Erhitzen. Zur Aufarbeitung wird der braunschwarze Rückstand unter Zuhilfenahme von etwas Äther nach vorheriger mechanischer Zerkleinerung in 5 %-iger NaHCO_3 -Lösung gelöst, die nicht mit Aktivkohle aufgeköcht zu werden braucht. Es genügt ein zweimaliges Waschen der NaHCO_3 -Lösung mit Äther. Die Lösung wird dann, abweichend von der Vorschrift von REICHERT und SCHÄFER (loc. cit.), in konz. Salzsäure auf zerstoßenem Eis eingerührt. Der anfallende Niederschlag wird mit Äther extrahiert, die vereinigten Ätherextrakte werden nach dem Waschen mit Wasser über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und i. Vak. eingedampft. Das zurückbleibende zähe Öl kristallisiert nach kurzer Zeit durch, der Kristallbrei wird aus Dioxan/Wasser oder Äthanol/Wasser umkristallisiert.

Ausbeute: 61 % d. Th. Schmelzpunkt und analytische Daten entsprechen den beschriebenen (s. S. 115).

102) loc. cit. 48), S. 100 ff.

103) Zur Entfernung von HBr und zwecks vollständiger Umlagerung in das 4-Bromderivat; vgl. loc. cit. 56)

Ganz analog erfolgte die Darstellung von

(a) 3-(1-Phenylpropyl)-tetronsäure (**51e**) aus 2-(1-Phenylpropyl)-acet-
essigester

Ausbeute: 58 % d. Th.

Farbloses Kristallpulver, Schmp. 159-160°C (Diisopropyläther)

C₁₃H₁₄O₃ (218,3)

Mol.-Masse: 218 (massenspektr.)

Ber. C 71,54 H 6,46

Gef. C 71,38 H 6,48

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 56 ff.

¹H-NMR: s. Theor. Teil, S. 55

UV (MeOH): λ_{max} = 202, 258

IR (KBr): cm⁻¹ 3400-2800, 3020, 2955, 2925, 2855, 2800-2380, 2685, 2560,
2360-2190, 1695, 1680-1485, 1475, 1465-1350, 1345, 1315,
1280, 1265, 1255, 1230, 1200, 1175, 1105, 1065, 1050, 1035,
975, 885, 805 (br.), 765, 740, 685

(b) 3-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-tetronsäure (**51f**) aus **61**

Ausbeute: 60 % d. Th.

Farblose Nadeln, Schmp. 153-154°C (Äther/Petroläther)

C₁₃H₁₃ClO₃ (252,7)

Mol.-Masse: 252/254 (massenspektr.)

Ber. C 61,79 H 5,19

Gef. C 61,79 H 5,19

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 56 ff.

$^1\text{H-NMR}$: s. Theor. Teil, S. 55

IR (KBr): cm^{-1} 3270-2800, 2960, 2930, 2870, 2780-2380, 2670, 2350-2210, 1885, 1695, 1675-1490, 1480, 1445, 1445-1355, 1345, 1325, 1285, 1275, 1265, 1200, 1175, 1100, 1080, 1055, 1035, 1005, 995, 835, 815, 795, 770, 750, 715, 690

1-(4-Chlorphenyl)-propylmalonsäurediäthylester (55)

Die Herstellung erfolgte analog der Vorschrift im ORGANIKUM ⁷⁵⁾ aus **59**

und Malonsäurediäthylester.

Ausbeute: 80 % d. Th.

Farbloses Öl, Sdp. $120-121^\circ\text{C}/0,01$ Torr

n_{D}^{21} : 1,4952

$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{ClO}_4$ (312,8)

Mol.-Masse: 312/314 (massenspekt.)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): ppm = 0,75 (3H, t, 7 Hz, $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 1,0 (3H, t, 7 Hz, $-\text{OCH}_2-\text{CH}_3$), 1,23 (3H, t, 7 Hz, $-\text{OCH}_2-\text{CH}_3$), 1,7 (2H, m, $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 3,1-3,78 (2H, m, $-\text{CH}-\text{CH}_2-$), 3,9 (2H, q, 7 Hz, $-\text{OCH}_2$), 4,21 (2H, q, 7 Hz, $-\text{OCH}_2$), 7,28 (4H, m, Aromat)

5,5'-Diphenyl-3,3'-methylenbistetronsäure (53a)

Methode A:

0,01 Mol **32** werden in 250 ml Wasser bei 90°C gelöst und nach Zugabe von

1 ml konz. Salzsäure unter Rühren tropfenweise mit einem Überschuß an

35 %iger Formaldehydlösung versetzt. Der entstehende flockige Niederschlag

wird abfiltriert und aus 50 %-igem wäßrigem Äthanol umkristallisiert.

Methode B:

0,01 Mol **32** werden in wenig absolutem Äthanol (ketonfrei) heiß gelöst und nach Zugabe einiger Tropfen konz. Salzsäure unter Rühren tropfenweise mit einem Überschuß an 35 %-iger Formaldehydlösung versetzt. Es wird 2 h bei 70°C weitergerührt. Der nach dem Eindampfen i. Vak. verbleibende Rückstand wird mit Äther digeriert, der Äther eingedampft und der Rückstand aus Äther/Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 80-85 % d. Th.

Farbloses Pulver, Schmp. 195-201°C (unscharf, Sintern bei 185°C)

$C_{21}H_{16}O_6$ (364,4)

Mol.-Masse: 364 (massenspekt.)

Ber. C 69,22 H 4,42

Gef. C 67,12 H 5,28 *)

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 64 ff.

1H -NMR (DMSO- d_6): ppm =3,15 (2H, s, $-CH_2-$), 5,73 (2H, s, H-5, H-5'),
7,41 (~10H, Aromaten)

IR (KBr): cm^{-1} 3160-2800, 2730-2380, 2350-2150, 1785, 1750-1685, 1670-1490, 1480, 1440, 1390, 1380, 1340, 1315, 1275, 1250, 1210, 1190-1140, 1070 (br.), 990 (br.), 905 (br.), 830-775, 750, 685

*) Trotz mehrfachen Umkristallisierens war die Substanz nicht analysenrein darstellbar, da sie beim Erhitzen nicht sehr beständig ist. Vgl. loc. cit. 19).

5,5'-Diphenyl-3,3'-äthylidenbistetronsäure (53b)

Die Darstellung erfolgte wie für **53a** beschrieben aus **32** und Acetaldehyd (Methode B).

Ausbeute: 90-95 % d. Th.

Farblose Kristalle, Schmp. 193-195°C (Äther/Hexan)

$C_{22}H_{18}O_6$ (378,4)

Mol.-Masse: 378 (massenspekt.)

Ber. C 69,83 H 4,79

Gef. C 69,14 H 5,08

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 64 ff.

1H -NMR: s. Theor. Teil, S. 63 f.

IR (KBr): cm^{-1} 3200-2750, 2700-2450, 2430-2380, 2380-2090, 1780-1655 (br.), 1650-1500 (br.), 1470, 1440, 1380, 1360, 1330, 1280 (br.), 1210-1155, 1135, 1110-1050, 1025, 995, 945, 890-810, 740, 715, 690

3-Äthoxycarbonyl-5-phenyltetronsäure (31)

Die Darstellung erfolgte analog der von ANSCHÜTZ und BÖCKER⁵⁷⁾ gegebenen Vorschrift. Abweichend von der Vorschrift wird jedoch wie folgt gearbeitet:

Pro Mol Natriummalonat wird nicht 1/3, sondern 1/2 Mol **27** eingesetzt, das dem Ansatz unter kräftigem Rühren tropfenweise zugesetzt wird. Dabei verflüssigt sich der Reaktionsbrei unter Gelbfärbung und erwärmt sich auf 50°C.

Unter fortgesetztem Rühren (Verfärbung nach orange) tritt nach 1 h Trübung

der Lösung ein. Nun wird der Ansatz auf 70°C erwärmt, wobei die Trübung zunimmt und eine dicke Suspension entsteht, die nach etwa 2,5 h sich plötzlich zusammenballt. Es wird nach Absetzen der schmierigen Masse noch 20 min lang unter Rühren auf $70\text{--}80^{\circ}\text{C}$ erwärmt, dann läßt man erkalten und über Nacht stehen.

Der entstandene feste Bodensatz wird mechanisch gelockert, etwa die Hälfte des überstehenden Benzols dekantiert und nach Zugabe von Wasser auf 60°C erwärmt. Der Bodensatz löst sich auf; die überstehende Benzolschicht enthält den größten Teil des Malonesterüberschusses. Nach Abtrennen der Benzolschicht im Scheidetrichter wird die wäßrige Schicht unter Rühren mit 25 %-iger Salzsäure versetzt, bis sie stark saure Reaktion zeigt. Der ausgefallene, nahezu farblose Niederschlag wird abgenutscht, auf einem Tonteller getrocknet und aus 50 %-igem Äthanol umkristallisiert.

Ausbeute: 57 % d. Th.

Farblose Kristalle, Schmp. $141\text{--}142^{\circ}\text{C}$ (Lit. ⁵⁷⁾ 140°C)

5-Phenyltetronsäure (32)

Die Darstellung erfolgte aus **31**. Abweichend von der von ANSCHÜTZ und BÖCKER ⁵⁷⁾ gegebenen Vorschrift wird die alkalische Hydrolyse von **31** durch Auflösen in 2,5 N KOH (wäßrig) und fünftägiges Stehenlassen bei Raumtemperatur durchgeführt. Anschließend wird mit 25 %-iger Salzsäure

angesäuert und auf dem Wasserbad kurz bis zur Beendigung der Gasentwicklung erwärmt. Die fast rein anfallende 5-Phenyltetronsäure wird, ebenfalls abweichend von der Vorschrift von ANSCHÜTZ und BÖCKER (loc. cit.), lediglich durch Umkristallisation aus Äthanol/Wasser gereinigt.

Ausbeute: 88 % d. Th.

Farblose Kristalle, Schmp. 127-128°C (Lit. ⁵⁷⁾ 127,5-128,5°C)

Massenspektrum: s. Theor. Teil, S. 64 ff.

¹H-NMR: s. Theor. Teil, S. 30 ff.

O-Acetyl-4-chlormandelsäure (56)

Aus 4-Chlormandelsäure und Acetylchlorid analog THAYER ¹⁰⁴⁾.

Ausbeute: quantitativ

Derbe, farblose Kristalle, Schmp. 79-80°C (Benzol/Petroläther)

C₁₀H₉ClO₄ (228,6)

Mol.-Masse: 228/230 (massenspektr.)

¹H-NMR (CDCl₃): ppm = 2,18 (3H, s, -CH₃), 5,93 (1H, s, -CH=),
7,36 (4H, s, Aromat), 8,96 (1H, s, -OH,
austauschbar mit D₂O)

O-Acetyl-4-chlormandelsäurechlorid (57)

Aus **56** und Thionylchlorid analog THAYER ¹⁰⁴⁾.

Ausbeute: 86 % d. Th.

¹⁰⁴⁾ K. Thayer in Org. Synth., Coll. Vol I, 12 (1932)

Farbloses, stechend riechendes Öl, Sdp. 98-99°C/0,05 Torr

$C_{10}H_8Cl_2O_3$ (247,1) Mol.-Masse: 246/248/250 (massenspektr.)

1H -NMR ($CDCl_3$): ppm = 2,16 (3H, s, $-CH_3$), 6,07 (1H, s, $-CH=$),
7,4 (4H, s, Aromat)

Wegen der extrem leichten Hydrolysierbarkeit waren das Massenspektrum und das 1H -NMR-Spektrum stets mit dem Hydrolyseprodukt **56** verunreinigt.

Äthyl-4-chlorphenylcarbinol (58)

Aus Äthylmagnesiumjodid und 4-Chlorbenzaldehyd analog der Vorschrift im ORGANIKUM ¹⁰⁵⁾.

Ausbeute: 77 % d. Th.

Farbloses Öl, Sdp. 67-70°C/0,01 Torr

n_D^{20} : 1,5369

$C_9H_{11}ClO$ (170,6) Mol.-Masse: 170/172 (massenspektr.)

1H -NMR ($CDCl_3$): ppm = 0,83 (3H, t, $J=7$ Hz, $-CH_3$), 1,7 (2H, m, $J=7$ Hz, $-CH_2-$), 2,7 (1H, s, $-OH$, austauschbar mit D_2O),
4,48 (1H, t, $J=7$ Hz, $-CH=$), 7,23 (4H, s, Aromat)

1-(4-Chlorphenyl)-propylbromid (59)

Aus **58** analog ROEDIG ⁹²⁾.

105) loc. cit. 75), S. 556

Ausbeute: 81 % d. Th.

Farbloses, stark lichtbrechendes Öl von aromatischem Geruch, Sdp. 54-57°C/

0,01 Torr

n_D^{15} : 1,5672

$C_9H_{10}BrCl$ (233,5)

Mol.-Masse: 232/234 (massenspektr.)

1H -NMR ($CDCl_3$): ppm = 0,87 (3H, t, $J=7$ Hz, $-CH_3$), 2,16 (2H, m, $J=7$ Hz und 7,5 Hz, $-CH_2-$), 4,83 (1H, t, $J=7,5$ Hz, $-CH=$), 7,31 (4H, s, Aromat)

2-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-propionylessigester (60)

Die Darstellung erfolgte aus Propionylessigester (nach ANDERSON und Mitarbeiter⁶⁴) und **59** analog der Vorschrift im ORGANIKUM⁷⁵).

Ausbeute: 85 % d. Th.

Farbloses, dickflüssiges Öl, Sdp. 110-111°C/0,02 Torr

$C_{16}H_{21}ClO_3$ (296,8)

Mol.-Masse: 296/298 (massenspektr.)

2-[1-(4-Chlorphenyl)-propyl]-acetessigester (61)

Die Darstellung erfolgte aus Acetessigester und **59** analog LAUER und KILBURN⁹¹).

Ausbeute: 88,6 % d. Th.

Farbloses Öl, Sdp. 97-98°C/0,03 Torr

n_D^{24} : 1,5043

$C_{15}H_{19}ClO_3$ (282,8)

Mol.-Masse: 282/284 (massenspektr.)

Lebenslauf

Am 9. Februar 1941 wurde ich als Sohn des Meteorologen Kurt Wagenknecht und seiner Ehefrau Luise-Charlotte geb. Bock in Bromberg geboren.

Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Volksschule in Thönse bei Hannover. Ab Frühjahr 1951 besuchte ich die Private Oberschule in Großburgwedel bei Hannover, ab Sommer 1951 das Städt. St. Georg-Gymnasium in Bocholt (Westf.), wo ich im Frühjahr 1960 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1960 und Wintersemester 1960/61 studierte ich an der Universität Erlangen Chemie.

Vom Sommersemester 1961 an studierte ich an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken am dortigen Dolmetscher-Institut Sprachen sowie internationales und europäisches Recht als Sachfach. Im Oktober 1965 bestand ich die Diplomübersetzer-Prüfung.

Vom 1. Dezember 1965 bis zum 31. März 1967 arbeitete ich bei Fried. Krupp Industriebau in Essen als Übersetzer und Dolmetscher.

Nach meiner vom 1. April 1967 bis zum 31. März 1969 dauernden Praktikantenzeit in der Engel-Apotheke in Münster (Westf.) legte ich im Frühjahr 1969 die Pharmazeutische Vorprüfung ab.

Im Sommersemester 1969 begann ich am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin mit dem Pharmaziestudium, das ich am 25. April 1972 mit dem Pharmazeutischen Staatsexamen abschloß.

Im Mai 1972 begann ich unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. K. Rehse am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin mit der vorliegenden

Dissertation.

Die Approbation als Apotheker erhielt ich im Mai 1972.

Im März 1963 heiratete ich Marianne Knappe.

